



# Composition corporelle du chien par bioimpédancemétrie : validation d'équations prédictives

Laurence Yaguiyan-Colliard

## ► To cite this version:

Laurence Yaguiyan-Colliard. Composition corporelle du chien par bioimpédancemétrie : validation d'équations prédictives. Physiologie [q-bio.TO]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2015. Français. NNT : 2015PA066069 . tel-01158511

**HAL Id: tel-01158511**

**<https://theses.hal.science/tel-01158511>**

Submitted on 1 Jun 2015

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Pierre et Marie Curie

ED 394

Physiologie, Physiopathologie et thérapeutique

**Composition corporelle du chien par  
bioimpédancemétrie : validation d'équations prédictives**

Par Laurence YAGUIYAN-COLLIARD

Thèse de doctorat de Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique

Dirigée par Dominique GRANDJEAN et co-dirigée par Françoise ROUX

Présentée et soutenue publiquement le 5 mai 2015

Devant un jury composé de :

SERRADAS Patricia, Professeur, Présidente

DESCHAMPS Jack-Yves, Professeur, Rapporteur

DIEZ Marianne, Professeur, Rapporteur

GRANDJEAN Dominique, Professeur, Examineur

ROUX Françoise, Maître de Conférences, Examineur

JAFFRIN Michel, Professeur émérite, Examineur



Except where otherwise noted, this work is licensed under

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>



*"The journey of a thousand miles begins with one step."*

*Lao Tzu*



©2015 Lauréline Colliard

## REMERCIEMENTS

*Je remercie Madame Patricia Serradas, pour avoir accepté d'être Présidente de ce jury et pour les nombreux échanges passionnants que nous avons pu avoir au sein de l'UPMC.*

*Je remercie sincèrement le Professeur Dominique Grandjean, pour m'avoir donné l'opportunité de commencer et de mener à bien ce travail de recherches au sein de l'Unité de Médecine de l'Élevage et du Sport de l'école nationale vétérinaire d'Alfort.*

*Je remercie également le Dr Françoise Roux, pour avoir co-dirigée cette thèse et m'avoir épaulée avec patience et amitié tout au long de ce travail, et depuis de nombreuses années maintenant.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude au Professeur Michel Jaffrin, qui a rendu ce travail possible grâce à son écoute et son aide précieuse. Sans lui, je n'aurais pu aboutir cette recherche.*

*Je remercie profondément les Docteurs Marianne Diez et Nathalie Priymenko pour leur amitié sans faille qui depuis des années rend mon travail plus passionnant. Qu'elles soient assurées de ma reconnaissance.*

*Pour ses encouragements et son soutien permanents, je remercie chaleureusement le Professeur Philippe Cardot.*

*Je remercie également le Professeur Patrick Nguyen pour m'avoir ouvert gentiment les portes de son laboratoire et de son chenil afin que je puisse aboutir ce travail.*

*Pour son aide autant technique qu'amicale, je remercie le Docteur Caroline Daumas. Qu'elle soit assurée de mon amitié.*

*Je remercie également le Professeur Jack-Yves Deschamps d'avoir accepté avec enthousiasme d'être un examinateur de ce travail.*

*Par patience et sa disponibilité, je tiens à exprimer ma gratitude au Docteur Marc Chodkiewicz. Il a toujours su être présent au bon moment et m'apporter les conseils qui m'ont permis d'avancer, pas seulement dans ce travail, mais également dans ma vie professionnelle en général.*

*Pour leur disponibilité et leur gentillesse, je remercie tout le personnel de l'Unité de Nutrition et d'Endocrinologie d'Oniris de m'avoir assistée pendant les prises de mesures avec les chiens.*

*Je remercie les volontaires (chiens et propriétaires) d'avoir accepté avec patience de participer à mes travaux.*

*Et enfin, j'ai une pensée spéciale pour tous les beagles qui se sont prêtés, souvent avec enthousiasme, à l'impédancemétrie.*

## Sommaire

I.	Introduction.....	6
II.	Revue bibliographique.....	7
1.	Méthode de dilution au deutérium .....	7
a.	Principe de la technique de dilution au deutérium.....	7
b.	Dosage du deutérium par Spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR, en français SITF) .....	8
2.	Absorptiométrie biphotonique à rayons X (DXA) .....	9
3.	Bioimpédance utilisée <i>in vivo</i> .....	10
a.	Modélisation de la composition corporelle.....	10
b.	Principes de la bioimpédance .....	11
c.	Bioimpédances monofréquence (SF-BIA) et multifréquence (MF-BIA) .....	16
d.	Facteurs de variation des mesures de bioimpédance .....	17
e.	Quelques utilisations de la bioimpédancemétrie en médecine humaine ...	22
f.	Utilisations de la bioimpédancemétrie en médecine vétérinaire .....	25
4.	Utilisation de la bioimpédance chez le chien .....	28
a.	Le chien : un contexte particulier.....	28
b.	Les disparités morphologiques interraciales .....	29
c.	Le sexe.....	30
d.	L'âge .....	31
5.	Conclusion.....	34
III.	Validation d'équations prédictives de la composition corporelle du chien Beagle sain par bioimpédancemétrie monofréquence à 50 kHz (article 1).....	35
1.	Contexte de la recherche .....	35
2.	Etablissement du protocole .....	35
3.	Article : mise en ligne prévue en juin 2015.....	41
IV.	Application des équations prédictives obtenues en BIA monofréquence à 50 kHz et validées chez le chien Beagle, à d'autres races de chien (article 2) .....	59
1.	Contexte de la recherche .....	59
2.	Article soumis à la publication le 13 janvier 2015 (BMC Research Notes) ...	60
V.	Conclusion générale.....	71
	Bibliographie.....	74
	Table des illustrations.....	91



# **I. Introduction**

Un organisme vivant est composé de diverses structures se différenciant à la fois par leur arrangement tissulaire et par leurs compositions ionique et moléculaire. Cela leur confère des propriétés physico-chimiques qu'il est possible de mesurer par différentes techniques. L'estimation des différents compartiments aqueux permet une évaluation du statut nutritionnel d'un individu. Toute altération de ce statut augmente la morbidité et est un facteur pronostic aggravant lors de situations d'agression de l'organisme. Il est donc nécessaire de rechercher des outils d'évaluation du statut nutritionnel qui soient à la fois fiables, non invasifs, peu onéreux et portables pour permettre leur utilisation en pratique.

En médecine vétérinaire et, en particulier chez le chien, deux techniques d'évaluation de la composition corporelle ont été validées : la méthode de dilution isotopique et l'absorptiométrie biphotonique à rayons X. Bien qu'elles soient fiables, leur utilisation n'est pas accessible en pratique courante, soit à cause de leur méthodologie lourde, soit par la nécessité d'acquérir un matériel hautement technique et coûteux. La bioimpédance développée chez l'homme présente l'avantage d'estimer indirectement la composition corporelle de façon peu coûteuse, accessible techniquement, rapide et non invasive. Chez le chien, les recherches sur le sujet sont peu nombreuses alors que la bioimpédance est utilisée en pratique courante en médecine humaine. La technique étant très sensible à la standardisation et à la population étudiée, la problématique de l'espèce canine est originale : en effet, la variété des formats et des conformations physiques parmi les quelques 300 races de chiens laissent supposer que la bioimpédance, si elle est intéressante, devra être validée avec précaution et méthode. L'objectif de ce travail est de déterminer s'il est possible de développer un protocole de mesure de la bioimpédance chez le chien vigile avec un matériel portable et dont les résultats seront interprétés de façon fiable pour estimer la composition corporelle dans l'espèce canine ?

Après une revue de la littérature sur les différentes techniques de mesure de la composition corporelle et l'utilisation de la bioimpédance chez le chien, un protocole et une validation de la bioimpédance chez le chien beagle adulte vigile seront présentés. Le protocole et les équations prédictives déterminées chez le Beagle seront ensuite testés chez des chiens de diverses races pour vérifier s'ils sont généralisables à tout chien domestique.



## II. Revue bibliographique

### 1. Méthode de dilution au deutérium

Les méthodes de dilution isotopique permettent l'estimation de l'eau totale et/ou de l'eau extracellulaire contenues dans l'organisme. En soustrayant l'eau extracellulaire de l'eau totale, il est possible de calculer l'eau intracellulaire (SCHOELLER 2005). Des isotopes naturels de l'hydrogène comme le deutérium ou le tritium sont couramment utilisés pour cette quantification.

La connaissance de la répartition de l'eau dans l'organisme permet de déterminer la composition de la matière vivante. Pour cela, la plupart des modèles de la composition corporelle considèrent qu'un organisme vivant peut être divisé en deux compartiments chimiquement différents : la masse grasse et la masse non-grasse (BROŽEK *et al.* 1963). Il est admis que la composition chimique de la masse non grasse est relativement constante, avec une teneur en eau de 73,2% chez l'Homme adulte (PACE *et al.* 1945, FORBES *et al.* 1953). La masse grasse, quant à elle, ne contient pas d'eau (MENDEZ & KEYS 1960). Par exemple, l'utilisation d'un traceur isotopique de l'hydrogène, le deutérium, permet de déterminer l'eau totale contenue dans un organisme.

#### a. Principe de la technique de dilution au deutérium

Le principe de la méthode de dilution isotopique est d'injecter à un individu dont on veut connaître la composition en eau une quantité connue de traceur (Q). Une fois dans l'organisme, le traceur s'y dilue et se répartit uniformément, comme la molécule non marquée. Après une période d'équilibre, la concentration du traceur (C) permet de calculer le volume de diffusion du traceur (V), selon la formule suivante :

$$V = \frac{Q}{C}$$

L'eau deutérée (D<sub>2</sub>O) est fréquemment utilisée comme traceur : l'hydrogène de l'eau (H<sub>2</sub>O) est remplacé par du deutérium (<sup>2</sup>H ou D). La concentration naturelle de l'isotope <sup>2</sup>H chez l'Homme est de 0,015%. L'eau deutérée a la même distribution dans le corps que l'eau,

les échanges au sein de l'organisme sont les mêmes qu'avec de l'eau et il n'y a pas de sécrétion sélective de D<sub>2</sub>O (SCHLOERB *et al.* 1950). En revanche, l'échange d'eau au sein du tissu adipeux est négligeable (SCHLOERB *et al.* 1950). Il a été estimé que l'ensemble des isotopes naturels de l'hydrogène, à savoir le deutérium et le tritium, est de l'ordre de 0,5 à 2% du poids corporel (HEVESY & JACOBSEN 1940).

Le D<sub>2</sub>O est toxique chez la souris quand la concentration sanguine atteint 25% de la teneur en eau (SCHLOERB *et al.* 1950). L'injection intraveineuse de 100 mg *in toto* chez l'homme induit des concentrations sanguines en D<sub>2</sub>O de l'ordre de 0,2% de l'eau totale, bien en deçà de la toxicité démontrée chez la souris (SCHLOERB *et al.* 1950). Cet isotope est donc non toxique aux doses utilisées (PINSON 1952).

Avec le développement des méthodes de dosage du deutérium à faibles concentrations dans les liquides biologiques (LUKASKI & JOHNSON 1985), cet isotope est aujourd'hui le plus utilisé dans les méthodes de dilution pour la détermination de la composition corporelle.

## **b. Dosage du deutérium par Spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR, en français SITF)**

La spectroscopie infrarouge regroupe des méthodes d'identification et de dosages basées sur l'étude de l'absorption ou de la réflexion des radiations électromagnétiques (comprises entre 1 et 1000  $\mu\text{m}$ ) par un échantillon. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est une de ces méthodes. Elle a l'avantage d'être plus rapide et moins coûteuse que les méthodes classiques de spectrométrie infrarouge. En soumettant un échantillon à un rayonnement infrarouge, on peut mesurer les fréquences absorbées ainsi que leurs intensités. La liaison entre l'oxygène et le deutérium est détectée pour une longueur d'onde comprise entre 2720 et 2735  $\text{cm}^{-1}$  alors que la liaison entre l'oxygène et l'hydrogène ne réagit pas à ces mêmes longueurs d'onde (KHALED *et al.* 1995).

Cette propriété permet de mesurer l'enrichissement de l'échantillon en D par rapport à une valeur standard de référence. La précision de cette technique pour l'estimation de l'eau corporelle totale est comprise entre 1 et 2% (JENNINGS *et al.* 1999, BACKUS *et al.* 2000). Cette précision permet d'administrer de faibles doses de D<sub>2</sub>O et de pouvoir la doser sur une faible quantité de sang. Elle est donc particulièrement intéressante chez l'animal.

La FITR a été validée chez le chien par FERRIER *et al.* (2002) pour la détermination de l'eau corporelle totale. Le calcul de la masse non grasse est réalisé en considérant que le taux d'hydratation de la masse non grasse chez le chien est de 74,4% (HARRISSON *et al.* 1936).

Chez l'homme, l'équilibre des concentrations est obtenu 3 h après l'injection d'eau deutérée (HEVESY & JACOBSEN 1940), comme chez le chien (ZWEENS *et al.* 1980, LUKASKI & JOHNSON 1985, BURKHOLDER & THATCHER 1998, ELLIOTT 2001)

La méthode de dilution isotopique au deutérium n'est pas facile à utiliser en dehors d'un contexte de recherche et représente un coût non négligeable d'utilisation et d'analyse. De plus, elle ne permet pas le suivi de l'équilibre hydrique d'un individu au cours du temps. Elle constitue cependant la méthode de référence de la détermination de la composition corporelle à ce jour, chez l'homme et l'animal.

A partir de cette méthode de référence, deux techniques d'analyse corporelle ont été développées : l'absorptiométrie à rayons X et la bioimpédance.

## **2. Absorptiométrie biphotonique à rayons X (DXA)**

L'absorptiométrie biphotonique à rayons X est la technique d'imagerie médicale la plus employée chez l'animal de compagnie pour la mesure de la composition corporelle et sert maintenant également de méthode de référence (GERMAN *et al.* 2010, MICHEL *et al.* 2011). Elle a été validée chez le chien et le chat en comparaison à l'analyse chimique de cadavres (SPEAKMAN *et al.* 2001 ; RAFFAN *et al.* 2006).

Schématiquement, le corps du patient est traversé par deux faisceaux de photons émis à deux niveaux énergétiques. Ces faisceaux sont atténués différemment suivant la nature des tissus traversés, ce qui permet de différencier la masse osseuse, la masse grasse et la masse maigre.

Cette méthode présente l'avantage d'être peu irradiante et montre de bonnes performances en termes de répétabilité et de reproductibilité (MUNDAY *et al.* 1994, TOLL *et al.* 1994). Elle présente néanmoins l'inconvénient de demander un matériel très coûteux, non

disponible dans la majorité des structures vétérinaires. De plus, cette technique impose une anesthésie générale de l'animal, celui-ci devant rester immobile entre 15 et 30 minutes.

### **3. Bioimpédance utilisée *in vivo***

La bioimpédancemétrie représente de façon intéressante une alternative aux techniques de dilution isotopique et de DXA. Elle est peu coûteuse, rapide, facile d'emploi pour le personnel médical et non invasive pour le patient. Le principe est de mesurer la résistance des tissus biologiques à un courant électrique sinusoïdal de haute fréquence, envoyé par l'intermédiaire d'électrodes placées sur le corps.

L'utilisation de la bioimpédance électrique (BIA) sur des tissus ou des organismes vivants est étudiée depuis plus de 80 ans (COLE 1928, SCHWAN 1968, HOFFER *et al.* 1970, ACKMANN & SEITZ 1984), avec de nombreuses applications en médecine humaine pour la mesure de la composition corporelle, par exemple.

#### **a. Modélisation de la composition corporelle**

Traditionnellement, un organisme est artificiellement séparé en deux compartiments : le compartiment aqueux et le compartiment tissulaire. Le compartiment aqueux, composé d'eau et d'ions, est lui-même composé de deux espaces : l'espace extracellulaire (approximativement 45% du volume d'eau total) et l'espace intracellulaire (approximativement 55% du volume d'eau total).

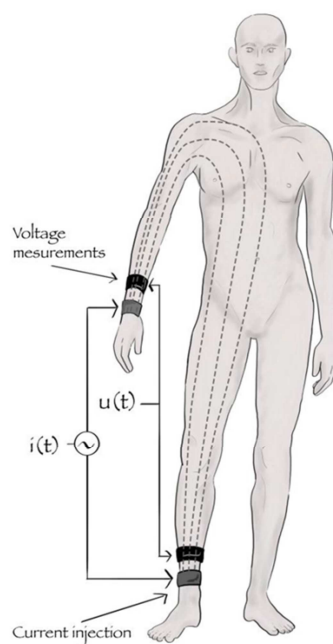
L'espace extracellulaire est composé du plasma et du liquide interstitiel dans lequel baignent les cellules. Le compartiment tissulaire regroupe la masse grasse et la masse non-grasse. La masse grasse constitue schématiquement la réserve énergétique de l'organisme alors que la masse non-grasse représente la fraction métaboliquement active de l'individu.

La BIA permet de déterminer les volumes d'eaux intra- et extracellulaire. Elle est également une méthode indirecte et validée de la mesure de la masse maigre d'un organisme (et donc, par calcul, de la masse grasse), puisqu'il existe une régression linéaire entre l'impédance et une méthode de référence (le plus souvent par dilution isotopique). Ce lien arithmétique a permis le développement de formules prédictives de la composition corporelle

chez l'humain sain, adulte (WANG *et al.* 1998, 1999), adolescent et enfant (HOUTKOUPE *et al.* 1989).

## b. Principes de la bioimpédance

Le principe de la BIA est d'appliquer un courant alternatif sinusoïdal à un individu aux moyens d'électrodes appliquées sur la peau (bornes) et de mesurer la résistance électrique du corps. Le passage du courant est non perceptible par le sujet. Si, initialement, la mesure de BIA se faisait à partir de deux électrodes, LUKASKI *et al.* (1986) ont validé l'utilisation de 4 électrodes (deux émettrices et deux réceptrices) (Figure 1). Cela a permis de limiter les erreurs de lecture de l'impédance observées quand seulement deux électrodes (émettrice et réceptrice) étaient utilisées (SCHWAN 1968). Elle limite également les effets de la température cutanée et de l'hydratation de la peau, chez des sujets au repos (CORNISH *et al.* 1998).



*Figure 1 : Mesure d'impédance de l'ensemble du corps à l'aide de 4 électrodes. Le courant alternatif sinusoïdal est transmis par les électrodes émettrices (en gris) au poignet et à la cheville à droite. Le courant  $u(t)$  sera mesuré au moyen d'électrodes réceptrices (en noir) placées au-dessus des électrodes émettrices. Ainsi, le courant  $i(t)$  traverse l'ensemble du corps (lignes pointillés). Dessin original : Lauréline Colliard*

Suivant la position des électrodes, il est possible d'effectuer soit des mesures sur corps entier, soit des mesures segmentaires du tronc, d'une jambe.... Ces modèles partiels ont été développés, chez l'homme (CORNISH *et al.* 1999), mais ne sont pas encore utilisés chez l'animal et ne seront donc pas abordés ici.

Les milieux intra et extracellulaires agissent comme des conducteurs électriques. Le milieu extracellulaire offre une résistance au courant électrique qui le traverse alors que la cellule, qui est limitée par une membrane plasmique polarisée, fait office de condensateur.

La capacité de ce condensateur est proportionnelle à sa surface. Ainsi, traditionnellement, le tissu biologique est représenté comme un circuit électrique composé de résistances et de condensateurs (Figure 2).

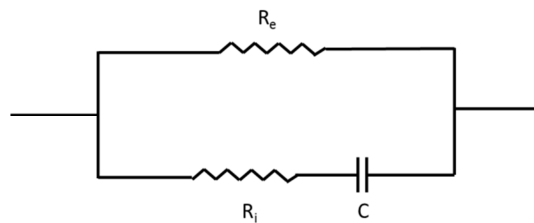
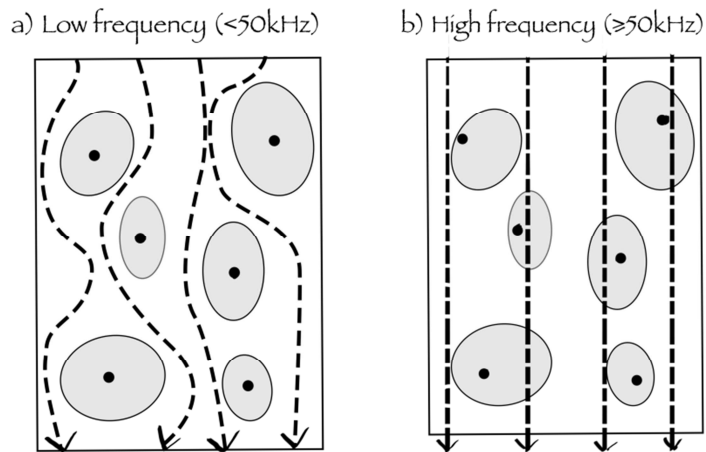


Figure 2 : Schématisation du circuit électrique constitué par la matière biologique.  $R_e$  : résistance extracellulaire,  $R_i$  : résistance intracellulaire,  $C$  : capacitance de la membrane plasmique cellulaire.

En fonction de sa composition en eau et en électrolytes, un tissu biologique oppose donc un certain degré de résistance au passage d'un courant. La masse maigre oppose un degré de résistance important contrairement à la masse grasse.

Lorsqu'un courant électrique traverse un milieu biologique, il peut en fonction de la fréquence du courant appliqué, soit passer par les espaces intercellulaires sans traverser les cellules (milieu extracellulaire), soit traverser l'ensemble des structures par les milieux intra et extracellulaire. A faibles fréquences ( $< 50$  kHz), le courant ne pénètre pas dans les cellules et circule donc dans l'espace extracellulaire. A de plus hautes fréquences ( $\geq 50$  kHz), le courant traverse les membranes plasmiques et circule ainsi dans les espaces intra- et extracellulaires (PATEL *et al.* 1994) (Figure 3).



*Figure 3 : Schéma représentant les modalités de passage d'un courant électrique (flèche en pointillé) soit a) uniquement dans l'espace extracellulaire (basses fréquences, < 50 kHz), soit b) au travers de l'ensemble des structures (hautes fréquences, ≥ 50 kHz). Dessin original : Lauréline Colliard*

L'impédance électrique (notée  $Z$ ) mesure l'opposition exercée par un tissu à la propagation d'un flux électrique. Elle est directement proportionnelle à la longueur du tissu et inversement proportionnelle à son diamètre (NYBOER 1972). Cette valeur est décomposée en deux éléments : la résistance (notée  $R$ ) et la réactance (notée  $X_c$ ).  $R$  est une donnée passive dans la mesure où sa valeur ne dépend pas de la fréquence du signal électrique. Elle représente l'opposition d'un milieu organique à un courant électrique alternatif. La résistance,  $R$  est inversement liée à la teneur en eau et en électrolytes du matériel biologique traversé. En revanche, la réactance,  $X_c$ , est modifiée par la fréquence du signal électrique, car elle est liée aux propriétés de capacitance de la membrane cellulaire. La réactance est donc sujette aux variations dues à l'intégrité, à la fonction et à la composition de cette membrane cellulaire (BAUMGARTNER *et al.* 1988).

La loi d'Ohm en courant alternatif établit une relation entre la tension complexe du courant  $U$  (en Volts) et,  $I$  (en ampères), l'intensité complexe du courant électrique, selon la formule suivante :

$$U = Z \times I$$

Avec  $U$  : la tension entre deux bornes, exprimée en Volts ;  $Z$  : l'impédance en Ohms ;  $I$ , le courant électrique en Ampères.

La valeur de  $Z$  est normalement représentée comme un nombre complexe où  $R$  est la composante réelle et  $X_c$  la composante imaginaire de ce nombre. Par simplicité et, sachant que la bioimpédance n'utilise que du courant alternatif, la notation complexe sera abandonnée et  $Z$  sera écrite selon la formule suivante :

$$Z^2 = R^2 + X_c^2$$

Avec  $Z$  : l'impédance, exprimée en Ohms ;  $R$  : la résistance, exprimée en Ohms et  $X_c$  : la réactance, exprimée en Ohms.

A fréquence constante et, en considérant que le conducteur a une structure homogène, la conduction du courant électrique au travers de l'organisme est constante et proportionnelle au volume de ce conducteur, suivant la formule suivante (KUSHNER 1992) :

$$\text{volume} = a * \left( \frac{\text{longueur}^2}{Z} \right) + b$$

Avec  $a$  et  $b$  des constantes,  $Z$  l'impédance, exprimé en Ohms.

Par la suite, chez l'Homme, la longueur du corps est généralement remplacée par la hauteur  $H$  de l'individu (VAN MARKEN LICHTENBELT *et al.* 1994, SEGAL *et al.* 1991).



Si l'on considère qu'un organisme vivant peut être assimilé à un cylindre, le volume d'eau totale est calculé de la façon suivante (HOFFER *et al.* 1969, LUKASKI *et al.* 1985, KUSHNER & SCHOELLER 1986):

$$TBW = \rho * \frac{H^2}{Z}$$

Avec TBW : la quantité d'eau corporelle totale,  $\rho$ : la résistivité spécifique du corps, H : la hauteur du corps et Z : la mesure d'impédance.

La résistivité d'un corps aqueux dépend de sa teneur en électrolytes ainsi que de certains paramètres tels que la température.

Bien que la bioimpédancemétrie (BIA) soit une méthode de mesure séduisante et non invasive de la composition corporelle, sa précision est liée aux équations prédictives développées à partir de la comparaison avec les méthodes de références (principalement les méthodes de dilution isotopiques). Il a été ainsi possible de déterminer quels étaient les meilleurs critères anthropomorphiques à prendre en compte dans l'espèce humaine. HOFFER *et al.* (1970) ont montré que la TBW et la masse maigre sont reliées par une régression linéaire du genre :

$$V = a H^2/R + b W + c$$

Avec H, la taille de l'individu ; R, la résistance et W, le poids de l'individu.

Par la suite, de nombreuses études ont confirmé que  $H^2/R$  était le meilleur paramètre prédictif de la TBW (KUSHNER *et al.* 1992, ORGAN *et al.* 1994, SHAIKH *et al.* 2012). Cependant, pour généraliser sur une large population cette méthode, il est apparu par la suite que la prise en compte de la réactance  $X_c$  dans l'équation prédictive était essentielle pour une population d'individus sains de 20 à 94 ans (KYLE *et al.* 2001).

Au début de son développement, la bioimpédance a été utilisée à une seule fréquence puis, avec le développement technique du matériel, à de multiples fréquences.

## **c. Bioimpédances monofréquence (SF-BIA) et multifréquence (MF-BIA)**

### ***i. Bioimpédance monofréquence (SF-BIA)***

La bioimpédance a d'abord été utilisée en monofréquence (généralement à 50 kHz) pour mesurer l'eau totale en comparaison à la méthode de dilution au deutérium (DAVIES *et al.* 1988). A partir de 50 kHz, il est reconnu que le courant traverse l'ensemble des tissus biologiques et donc évalue à la fois les milieux intra et extracellulaire (NYBOER 1970, FOSTER & LUKASKI 1996).

La bioimpédance monofréquence (SF-BIA) ne permet pas de mettre en évidence les anomalies de répartition de l'eau entre les milieux intra- et extracellulaire, fréquentes dans différentes situations physiologiques (gestation, activité physique intense) et, surtout, et dans la plupart des maladies. C'est pourquoi, lors d'une conférence consensus en 1994, l'Institut national américain de la santé (NIH) a émis des réserves quant à son utilisation et surtout à l'extrapolation de données issues d'individus sains à des patients malades (NIH 1994).

### ***ii. Bioimpédance multifréquence (MF-BIA)***

Le développement de la bioimpédance multifréquence a permis de mesurer les différents compartiments corporels (MATTHIE *et al.* 1998).

La bioimpédancemétrie multifréquence (MF-BIA) a de nombreuses applications en recherche médicale mais également en clinique, en particulier en médecine humaine. Elle consiste à appliquer le courant électrique à de nombreuses fréquences entre 1 et 1000 kHz. A partir des valeurs de la résistance à basse et haute fréquences, il est possible de déterminer la quantité d'eau extracellulaire (basses fréquences) et d'eau totale (hautes fréquences) de l'organisme analysé (ACKMANN *et al.* 1984).

Cette technique a été validée en comparaison avec la méthode de dilution au deutérium, chez l'homme (VAN LOAN *et al.* 1987) et chez l'animal (CORNISH *et al.* 1992, BOWEN *et al.* 1998, ELLIOTT *et al.* 2002, FIELDING *et al.* 2004).

Dans une étude sur 14 personnes adultes en bonne santé, PATEL *et al.* (1994) n'ont pas montré de différence significative sur la précision de la mesure de la TBW par SF-BIA et par MF-BIA. Cependant, dans une méta-analyse plus récente, MARTINOLI *et al.* (2003) ont observé que la MF-BIA semblait plus précise dans l'estimation de la TBW que la SF-BIA, chez des patients sains, obèses ou souffrants d'insuffisance rénale chronique.

L'utilisation de la bioimpédance multifréquence semble estimer plus précisément l'eau corporelle totale que la SF-BIA, chez des sujets adultes et sains (CORNISH *et al.* 1996 ; SD = 5,2%). De plus, à basse fréquence, la MF-BIA peut déterminer une perte en eau extracellulaire (DEURENBERG & SCHOUTEN 1992).

Cependant, que ce soit en mode mono-fréquence ou multifréquence, la BIA est sensible à de nombreux facteurs, qu'ils soient liés au matériel, aux opérateurs ou aux conditions de prise de mesures.

## **d. Facteurs de variation des mesures de bioimpédance**

### ***i. Répétabilité des mesures***

La répétabilité est définie comme la variation d'une mesure effectuée sur le même sujet, dans les mêmes conditions (même lieu, même matériel, même mode opératoire, même opérateur), avec des mesures réalisées sur une courte période (TAYLOR & KUYATT 1994). La répétabilité représente les variations exclusivement liées à la méthode de mesure.

Dans leur étude sur l'utilisation d'un impédancemètre portable mono-fréquence, chez 46 chiens de propriétaires, STONE *et al.* (2009) ont obtenu une répétabilité moyenne de 1,64% avec 5 mesures répétées sur chaque animal. En utilisant le même matériel sur 24 chiens, mais dans des conditions différentes, GERMAN *et al.* (2006) ont obtenu une répétabilité de 2,2%.

## *ii. Appareillage et conditions de mesure*

Un certain nombre d'erreurs peuvent se produire lors de la prise de mesure par BIA. Il y a tout d'abord les erreurs ou variations de mesure **inhérentes au matériel** : par exemple, au travers de l'interface entre le patient et l'appareil de mesure. En effet, les câbles reliant l'appareil et le patient possèdent leurs propres caractéristiques de conduction, susceptibles de modifier les résultats (AL-HATIB 1998).

Le type d'**électrodes**, ainsi que leur localisation sur le corps, influencent les résultats de résistances, de réactances et d'angles de phase (GUALDI-RUSSO & TOSELLI 2002, TSAI *et al.* 2002, BOGÓNEZ-FRANCO *et al.* 2009, MÁRQUEZ *et al.* 2010, MALLY & .DITTMAR 2012, BUENDIA *et al.* 2012, DITTMAR 2012).

A basses fréquences (<5 kHz) ou à hautes fréquences (>200 kHz), la reproductibilité des mesures est médiocre, chez l'Homme (HANNAN *et al.* 1994). Aussi, il a été montré qu'un courant alternatif supérieur à 5 kHz doit être appliqué, chez l'Homme mais aussi chez le chien, pour traverser correctement et de façon sûre le thorax (GEDDES *et al.* 1969).

Lorsque plusieurs appareils de mesure de même marque sont utilisés sur une même population et, en utilisant les mêmes formules prédictives, les résultats montrent des différences parfois significatives (GONÇALVES *et al.* 2013).

La **précision des mesures anthropométriques** est également importante : KUSHNER *et al.* (1992) ont montré qu'une erreur de 2,5 cm sur la taille de l'individu entraînait une erreur d'environ 1L de la TBW. De même, une erreur d'un kilogramme sur le poids de l'individu induit une erreur de 0,2 L dans le calcul de la TBW et une erreur de 700 g dans le calcul de la masse grasse.

La **standardisation des conditions** de mesures permet une meilleure concordance des résultats lorsque la BIA est comparée avec une méthode de référence (GONÇALVES *et al.* 2013).

### *iii. Caractéristiques du patient sain*

**La position du sujet** a une grande influence sur les résultats de la BIA (FENECH *et al.* 2002 ; MORENO *et al.* 2008). Ainsi, KUSHNER *et al.* (1996) ont montré que, pour un même sujet, en alternant pour les mesures les positions assise et couchée, les électrodes étant placées dans la même configuration, la valeur d'impédance variait jusqu'à plus de 4 % selon la position, les valeurs les plus basses étant obtenues pour la position debout et les plus hautes pour une position couchée. Ces différences traduisent le changement de répartition des fluides sous l'effet de la gravité qui modifie en particulier l'hydratation musculaire (BERG *et al.* 1993). Des résultats similaires ont été trouvés dans d'autres études (ROOS *et al.* 1992, SHIRREFFS & MAUGHAN 1994). Il est donc impératif de standardiser la position du sujet lors de la prise de mesure.

Il a été montré par une méta-analyse d'études épidémiologiques de la composition corporelle de l'homme que le pourcentage de matière grasse corporelle dépendait de la population concernée (BÖHM & HEITMANN 2013). De plus, la précision des équations prédictives dépend, chez l'homme, de la population de référence utilisée pour la validation de ces équations (VAN LOAN & MAYCLIN 1987, DEURENBERG *et al.* 1991). Ainsi, les différentes études ont montré que chez l'homme, **la race voire l'ethnie** (KOTLER *et al.* 1996, YANOVSKY *et al.* 1993, DEURENBERG *et al.* 2002, CARPENTER *et al.* 2013, KUMAR *et al.* 2013, LUKE *et al.* 2013), **le sexe** (KUSHNER & SCHOELLER 1986, VAN LOAN *et al.* 1987, SEGAL *et al.* 1988, DEURENBERG *et al.* 1991, WU 1992, GORAN *et al.* 1993, KOTLER *et al.* 1996, ELLIS & WONG 1998, GUDIVAKA *et al.* 1999, KYLE *et al.* 2001, DITTMAR 2003, BARBOSA-SILVA *et al.* 2005, DITTMAR 2012, CARPENTER *et al.* 2013, KUMAR *et al.* 2013) **et l'âge** (HOUTKOOPEL *et al.* 1989, DEURENBERG *et al.* 1991, WU 1992, GORAN *et al.* 1993, DITTMAR 2003, MASUDA & KOMIYA 2004, BARBOSA-SILVA *et al.* 2005, KAGAWA *et al.* 2006, ANDERSEN *et al.* 2011, DITTMAR 2012, KIM *et al.* 2014) modifiaient la conduction électrique et qu'il était donc nécessaire d'évaluer séparément ces différentes populations afin d'établir des formules prédictives spécifiques. Ces disparités imposent de tester les équations prédictives sur le groupe considéré, même si elles sont utilisées au sein d'ethnies voisines. Par exemple, BATTISTINI *et al.* (1995a) ont vérifié que les formules prédictives de la composition corporelle développées, chez les sujets de type caucasiens, pouvaient être aussi utilisées chez des sujets vivant au Kazakhstan.

**La teneur en eau** d'un organisme varie de façon physiologique au cours de la vie de l'individu. Ainsi, le taux d'hydratation et la répartition des volumes d'eau sont différents chez l'enfant, l'adulte et la personne âgée (FORBES 1953, CHEEK 1968). De même, lors de la **gestation**, la répartition des volumes hydriques est modifiée par la présence d'un utérus grévise, avec une augmentation de l'eau corporelle totale par augmentation de l'eau extracellulaire (LARCIPRETE *et al.* 2003). Ainsi, chez la femme, des équations prédictives spécifiques ont été développées pour chaque trimestre de grossesse (LUKASKI *et al.* 1994, VALENSISE *et al.* 2000, BERLIT *et al.* 2013). Le retour à la normale de la répartition des volumes hydriques s'effectue dans les 60 jours *post-partum* (GHEZZI *et al.* 2001).

En revanche, les **menstruations** chez la femme ont peu de répercussions sur la mesure de l'impédance (DEURENBERG *et al.* 1988).

Si la conductivité électrique est prise en considération, certaines concentrations en **électrolytes** peuvent modifier les résultats obtenus par bioimpédance. Ainsi, les concentrations sanguines en potassium, en sodium et en chlore ont montré une corrélation significative avec les mesures de résistance (ASSELIN *et al.* 1998, ROOS *et al.* 1992).

ANDROUTSOS *et al.* (2008) ont montré que **la prise de boisson et d'aliments** dans les deux heures précédant les mesures, chez 55 personnes adultes saines, a eu pour effet de surestimer l'impédance. Les auteurs ont conclu cependant que cette différence ne constitue pas une source majeure d'erreur. Cela a été confirmé dans une autre étude où la consommation d'un repas ou d'une boisson a engendré une modification de moins de 3% de la mesure d'impédance (DEURENBERG *et al.* 1988).

Un **exercice physique**, lorsque celui-ci est modéré, n'a pas de répercussion très importante sur la mesure d'impédance (DEURENBERG *et al.* 1988, LIANG & NORRIS, 1993). Cependant, tout dépend de l'intensité de l'exercice et une adaptation des équations prédictives est parfois nécessaire chez les grands sportifs (ASSELIN *et al.* 1998 ; MORENO *et al.* 2008). En effet, un exercice physique soutenu modifie les flux sanguins et les températures corporelle et cutanée. Chez des sujets sains, CATON *et al.* (1988) ont montré qu'une élévation de **la température cutanée** de 9 °C diminuait de 7,6% la résistance mesurée par impédancemétrie. Ce résultat a été confirmé dans une autre étude où une augmentation de la température de la peau de 6 °C s'est accompagnée d'une diminution de la résistance de 3% (ASSELIN *et al.* 1998). Ainsi, les équations prédictives établies pour la détermination de la

composition corporelle ne devraient pas être utilisées en l'état chez des individus venant de pratiquer une activité physique (MOON 2013), car celle-ci s'accompagne d'un changement de la température cutanée, du flux sanguin cutané ainsi qu'à une déshydratation de plus de 2 à 3%.

De même, la présence d'une affection pathologique est à même de perturber les mesures de bioimpédance.

#### *iv. Le patient malade*

La teneur en eau totale et sa répartition en eau extracellulaire et en eau intracellulaire est liée au statut nutritionnel d'un individu. Une augmentation de l'eau extracellulaire peut être due à un état de malnutrition, que ce soit par dénutrition (ROSE 1994) ou excès d'apports (SHETTY 1995, BATTISTINI *et al.* 1995b).

L'influence de **l'état d'hydratation** du patient, a aussi été explorée. La résistance est généralement inversement proportionnelle à la quantité d'eau totale contenue dans l'organisme mesuré. O'BRIEN *et al.* (1999) ont montré que la BIA permettait de détecter des états de déshydratation modérée.

La présence d'une **obésité** s'accompagne de changements de la composition corporelle (BEDOGNI *et al.* 1998). La bioimpédance exploite d'ailleurs le fait que la masse grasse modifie le signal électrique par rapport à la masse maigre (WU 1992, BARBOSA-SILVA *et al.* 2005). Il a été montré que les enfants obèses ont une répartition des volumes fortement modifiée, avec une augmentation relative de l'eau extracellulaire, par rapport à des enfants de poids optimal (BATTISTINI *et al.* 1995b). Les formules développées chez l'enfant en état corporel satisfaisant ne peuvent donc pas s'appliquer aux enfants obèses. Cela a été confirmé dans d'autres études de populations : les formules validées sur la population générale ont tendance à sous-estimer la masse grasse et surestimer la masse maigre des individus obèses, et ce, quel que soit leur âge (DEURENBERG 2001, EISENMANN *et al.* 2004, GENTON *et al.* 2010). Ainsi, il est nécessaire d'adapter les formules prédictives, développées à partir de sujets de poids standard, aux personnes obèses (SEGAL *et al.* 1988, GRAY *et al.* 1989, BATTISTINI *et al.* 1992).

Un état de **dénutrition** invalide également les équations prédictives définies chez l'individu sain (HEYMSFIELD *et al.* 1994). De nombreuses maladies infectieuses, organiques ou métaboliques s'accompagnent d'un état de dénutrition plus ou moins sévère, aussi il convient d'être prudent quant à la généralisation de l'utilisation des équations prédictives développées chez des individus sains.

La présence d'un **phénomène inflammatoire** s'accompagne le plus souvent d'une expansion du volume d'eau extracellulaire (CHROUSOS 1995). Par ailleurs, la consommation de molécules anti-inflammatoires, qu'elles soient ou non stéroïdiennes, ont un impact sur la répartition du sodium et de l'eau et s'accompagnent donc d'une augmentation de l'eau extracellulaire (ROSE 1994).

Au travers de la sensibilité de la méthode aux conditions des mesures et aux sujets choisis, il est ainsi obligatoire de définir précisément les conditions de mesures et l'appareillage, si l'on veut réitérer une expérience avec un matériel donné, ainsi que les équations prédictives associées à une population.

## **e. Quelques utilisations de la bioimpédancemétrie en médecine humaine**

En 2003, la Société Européenne de Nutrition Clinique et Métabolisme (ESPEN) a publié un manuel complet d'utilisation de la BIA (KYLE *et al.* 2004 a et b). Ce document regroupe toutes les informations d'utilisation et les limites d'emploi de cette technique en médecine humaine.

Il a été montré qu'il est préférable d'utiliser l'impédance en multifréquence pour mesurer les **volumes aqueux** dans un organisme et pour en montrer les variations dans les différents compartiments, par rapport à l'utilisation d'une ou de deux fréquences (habituellement 5 et 200 kHz) (GUDIVAKA *et al.* 1999, PATEL *et al.* 1994)

La BIA est utilisée dans les **études épidémiologiques** sur le statut nutritionnel et la composition corporelle d'une population ciblée, en particulier, pour évaluer l'incidence d'une malnutrition par excès ou par défaut (HEYDARI & SEYED 2011, GONÇALVES *et al.* 2013, MUPERE *et al.* 2014).



Aussi, l'évaluation du **statut nutritionnel** d'un patient et son suivi dans le temps sont possibles avec la BIA (HANNAN *et al.* 1998). Cette technique vient en complément des mesures anthropométriques et des valeurs sanguines biochimiques, insuffisantes à elles seules. En effet, les mesures anthropométriques ne donnent pas la composition corporelle : le fait qu'un individu reste à poids stable ne signifie pas que ses proportions de masse maigre (masse métaboliquement active) et de masse grasse restent identiques. Or, ces informations sont primordiales dans le suivi des maladies chroniques et dans le suivi des patients âgés, puisque qu'une sarcopénie accompagne le vieillissement (KIM *et al.* 2014).

La BIA est utilisée pour le suivi des effets sur la composition corporelle d'un **changement de régime** alimentaire ou d'une supplémentation (SILLERAS *et al.* 2013). Ainsi, LEMIEUX *et al.* (2014) ont pu mettre en évidence, par mesure de BIA, l'intérêt d'une supplémentation en protéines pour préserver la force musculaire, chez les femmes ménopausées.

La BIA est également utilisable dans le suivi des fluides corporels chez la **personne sportive** afin d'évaluer son état d'hydratation. Dans une expérience effectuée sur 13 hommes sains sportifs, il a été montré que la mesure d'impédance permettait de calculer le volume d'eau totale avec une précision d'environ 2% par rapport à la technique de dilution au deutérium et avec un coefficient de corrélation de 0,93 entre les deux techniques (ARMSTRONG *et al.* 1997).

La bioimpédancemétrie est également utilisée chez les **patients malades**, que ce soit pour évaluer leur statut nutritionnel et leur composition corporelle ou pour le suivi du patient souffrant d'une maladie chronique. Seuls quelques exemples d'applications de la BIA seront présentés dans ce document. En effet, toute maladie entraînant une anomalie de l'état d'hydratation et/ou d'une modification de la masse maigre, est susceptible d'être suivie en utilisant la BIA, comme lors d'anomalies de croissance et durant leur traitement (JANSSENS *et al.* 1997) voire pour le suivi des patients en soins intensifs (MAZARIEGOS *et al.* 1998, KAFRI *et al.* 2014).

Une des grandes utilisations de la BIA chez l'homme est le suivi des **patients hémodialysés** (ERDOĞAN *et al.* 2013). Dans ce cas, la BIA permet de surveiller la modification de la répartition de l'eau dans le corps lors de la dialyse plutôt que de mesurer la composition corporelle *sensu stricto* (PICCOLI 2005). En effet, MAGGIORE *et al.* (1996)

ont montré que la BIA était peu fiable pour suivre la masse maigre d'un patient dialysé, bien qu'ayant un intérêt en termes d'indice prédictif de mortalité. Chez les patients dialysés, le statut nutritionnel est étroitement lié à la qualité de vie et à la mortalité (ANTUNES *et al.* 2010, JOHANSEN *et al.* 2003, COMBE *et al.* 2001), car, en effet, la malnutrition protido-calorique est une des causes de la dégradation de la qualité de vie (KOPPLE 1999).

Dans le cas des **patients infectés par le virus du SIDA**, le suivi de la masse maigre est primordial et a une valeur pronostique. ANTUNES *et al.* (2012) ont montré que la BIA permettait de mesurer l'angle de phase (i.e. le délai temporel entre la stimulation par le courant et le voltage généré), représentant l'intégrité cellulaire, pour calculer un score (angle de phase rapporté à la médiane de la population saine) ayant une valeur pronostique dans cette affection. Cette étude a confirmé les travaux antérieurs d'OTT *et al.* (1995).

Des formules spécifiques de teneur en eau totale ont été définies à partir de la BIA chez les enfants atteints d'**arthrite rhumatoïde juvénile** (BEDOGNI *et al.* 1996 ; BEDOGNI *et al.* 1998). Il est indispensable de suivre la composition corporelle de ces enfants ainsi que la quantité de leur masse maigre, qui sont profondément modifiées avec la progression de la maladie. Cette maladie inflammatoire, comme les traitements médicaux associés (corticostéroïdes, méthotrexate), impactent la conduction électrique.

Le suivi par la BIA des enfants atteints de la **dystrophie musculaire de Duchenne** a été développé. En effet, dans cette myopathie d'origine génétique, l'évolution de la maladie s'accompagne de nombreux changements de la composition corporelle. Une formule spécifique a donc été définie pour ces enfants, et validée en comparaison avec les techniques de dilution isotopique (BEDOGNI *et al.* 1996 ; BEDOGNI *et al.* 1998). Les résultats de la détermination de la composition corporelle par SF-BIA à 50 kHz chez 11 enfants atteints de dystrophie musculaire de Duchenne ont été plus précis que ceux obtenus par mesures anthropométriques, en comparaison avec la méthode de dilution isotopique au deutérium (MOK *et al.* 2006) ou au DXA (MOK *et al.* 2010). Cependant, la BIA ne permet pas de mesurer précisément la masse musculaire mais met en évidence une accumulation précoce de masse grasse, qui est un point important en termes de gestion nutritionnelle de la maladie.

Au vu des résultats de BIA obtenus en médecine humaine, la technique a été également utilisée chez l'animal.

## **f. Utilisations de la bioimpédancemétrie en médecine vétérinaire**

Plusieurs motivations ont conduit à la détermination de la composition corporelle chez l'animal. La BIA a été utilisée chez les modèles expérimentaux animaux pour des applications en médecine humaine, chez les animaux de rente pour l'amélioration de l'alimentation humaine et chez les animaux de compagnie pour des objectifs de loisirs ou d'utilité. De façon plus anecdotique, la BIA a également été testée dans diverses espèces sauvages. Toutes ces applications ont contribué au développement de la technique dans le monde animal.

### ***i. Chez l'animal, modèle expérimental***

La technique de BIA a été validée en multifréquence (6 mesures entre 1 et 100 kHz) chez le **rat** sain par comparaison aux techniques de dilution au deutérium et de dessiccation (sacrifice de l'animal) (CORNISH *et al.* 1992). Les animaux ont été anesthésiés et quatre électrodes intradermiques ont été placées sur la tête et à la base de la queue. La détermination de l'eau totale et de l'eau extracellulaire par la BIA a permis de définir des équations prédictives de l'impédance mesurée, en fonction de la longueur du corps. Par la suite, la technique a de nouveau été validée avec une précision moyenne de 3,2% par rapport aux résultats obtenus par analyse chimique de la carcasse (SMITH *et al.* 2009).

Cependant, comme chez l'homme, le matériel utilisé et les procédures influencent la précision de cette méthode. Aussi, certains auteurs déconseillent son utilisation comme méthode d'évaluation individuelle (WARD *et al.* 2009). D'autres études ont validé la MF-BIA chez le rat sain anesthésié et après administration de diurétique ou de liquide de perfusion, avec un coefficient de variation inférieur à 5% sur l'ensemble de l'étude (HU *et al.* 2012).

La première étude utilisant la BIA, chez la **souris** saine anesthésiée (CHAPMAN *et al.* 2010) et, en comparaison à des méthodes de dilution isotopiques (tritium et sulfate 35), a montré que la technique est possible et fiable pour la détermination de l'eau totale et de l'eau extracellulaire, dans cette espèce.

## ***ii. Chez l'animal de rente***

L'utilisation de la BIA a pour but de déterminer la composition corporelle des animaux vivants ou des carcasses afin d'optimiser les rendements de production. Les équations prédictives sont obtenues par comparaison à la composition de la carcasse de l'animal abattu.

### **Chez les bovins**

L'utilisation de la BIA chez les bovins a montré une forte corrélation entre la composition en eau, sa répartition et l'impédance (THOMSON *et al.* 1997). Cependant, dans la même étude, les équations définies ne s'appliquaient pas aux bovins en état de malnutrition. Ces résultats confirment, comme chez l'homme, la spécificité des équations prédictives à la population dont sont issues les équations.

### **Chez les ovins**

HEGARTY *et al.* (1998) ont déterminé par BIA la composition en protéines, en matières grasses et en eau de carcasses d'agneaux, immédiatement après abattage et éviscération. Dans cette étude, l'utilisation de la technique a montré un certain nombre de limites, la rendant peu fiable pour cette utilisation.

### **Chez les poissons d'élevage**

La technique de BIA a été essayée et les protocoles affinés pour la détermination de la composition corporelle dans les élevages de différentes espèces de saumons (*Oncorhynchus tshawytscha* ; *Oncorhynchus gorbuscha* ; *Oncorhynchus kisutch*) (COX *et al.* 2011).

## ***iii. Chez l'animal de compagnie et/ou d'utilité***

### **Chez le cheval**

La bioimpédance a été utilisée chez le cheval adulte sain pour estimer les volumes hydriques (eaux totale, intra et extracellulaire). Elle a été validée en monofréquence (LATMAN *et al.* 2011), en utilisant deux fréquences (5 et 200kHz) (FORRO *et al.* 2000) et en multifréquence (FIELDING *et al.* 2004).

Elle a également été validée, chez le poulain (FIELDING *et al.* 2011). Cette technique a été utilisée avec succès dans le suivi de l'hydratation de l'animal au cours de l'exercice physique (McKEEN & LINDINGER 2004). Cette application est particulièrement importante dans cette espèce pour suivre les chevaux de courses ou d'endurance. A des fins médicales, la MF-BIA a été utilisée pour suivre la répartition des fluides corporels lors de perfusions ou d'administration de diurétiques, chez l'adulte (FIELDING *et al.* 2007, 2008).

### **Chez le chat**

En 1992, STANTON *et al.* ont réalisé la première étude en utilisant la BIA, chez le chat. Ils ont montré que les mesures d'impédance étaient fortement corrélées à la composition corporelle obtenue après le sacrifice des animaux. La technique a été validée en multifréquence (entre 5 et 1000 kHz), chez le chat sain anesthésié, en comparaison avec les méthodes de dilution au deutérium et au bromure (ELLIOT *et al.* 2002). Plus récemment, et avec un autre positionnement des électrodes sur le corps de l'animal, la technique a été de nouveau validée avec un coefficient de variation compris entre 6,6 et 10,1% (CENTER *et al.* 2011). Aucune étude sur chat vigile n'a été publiée à ce jour.

### ***iv. Chez les espèces sauvages***

La BIA a aussi été utilisée chez des espèces sauvages. Chez l'**ours** de différentes espèces (ours noir : *Ursus americanus* ; ours brun : *Ursus arctos* ; ours blanc : *Ursus maritimus*), la BIA a été testée afin de déterminer la composition corporelle d'animaux trouvés morts (FARLEY & ROBBINS 1994). Il a été montré qu'il y avait une forte corrélation entre l'analyse chimique des carcasses et les teneurs en eau et en lipides déterminées par BIA. Les auteurs ont cependant observé que la présence de blessures ou d'abcès sur le trajet entre les deux électrodes avaient des conséquences importantes sur les mesures d'impédance. Ils ont donc conclu que la BIA n'était pas applicable en l'état pour l'estimation de la composition corporelle des animaux sauvages trouvés morts.

Bien que dans une première étude (GALES *et al.* 1994), l'utilisation de cette méthode portable et facile d'emploi était prometteuse chez deux espèces de **phoques** (*Phoca groenlandica* et *Phoca hispida*), l'utilisation de la BIA chez le phoque commun (*Phoca vitulina*) a montré ses limites pour mesurer l'eau totale (BOWEN *et al.* 1998). Cette méthode est également inutilisable chez l'otarie de Kerguelen (*Arctocephalus gazella*) (ARNOULD

1995). La difficulté de maintenir immobiles ces animaux et la grande variabilité de la composition corporelle des phoques et des otaries sauvages ont rendu impossible la détermination d'équations prédictives précises.

En apparence anecdotique, ces publications montrent néanmoins le potentiel de la BIA dans l'évaluation de la composition corporelle par un moyen facile, non invasif, portable et peu coûteux. Elles soulignent aussi, à l'image de l'utilisation en médecine humaine, la sensibilité de la technique aux conditions de mesures et aux sujets utilisés.

## 4. Utilisation de la bioimpédance chez le chien

### a. Le chien : un contexte particulier

La littérature scientifique décrite précédemment a montré qu'il existait des disparités de composition corporelle chez l'Homme sain en fonction de l'origine ethnique, de l'âge et du sexe. Les canidés domestiques, de par la sélection génétique, présentent une variété extrême de conformations et de formats, en pesant de moins de 1 kg pour le Chihuahua à près de 100 kg pour le Mastiff (figure 4). Cette diversité est unique.



*Figure 4 : Extrêmes de formats corporels chez le chien. Le chihuahua peut ne peser que 500g alors que le Mastiff pèse une centaine de kilogrammes (Source internet : <http://www.dogguide.net>).*

Il existe actuellement plus de 300 races de chiens officiellement reconnues par la Fédération Cynologique Internationale. Chacune s'accompagne d'un standard de race regroupant les détails morphologiques, de robe, ainsi que certains traits comportementaux. Ces standards sont regroupés en France notamment par la Société Centrale Canine (<http://www.scc.asso.fr>).

## **b. Les disparités morphologiques interraciales**

Il est naturel de penser que la variation phénotypique observée chez le chien domestique s'accompagne de différences morphologiques internes comme la masse musculaire et/ou la conformation du squelette. Il existe cependant peu de publications s'intéressant spécifiquement à la composition corporelle du chien.

Dans une analyse par DXA sur 103 chiens de races diverses (Beagle, Welsh Corgi, Golden Retriever, Dogue allemand, Pointer et Rottweiler), LAUTEN *et al.* (2001) ont montré que, en rapportant chaque composant en pourcentage de poids, il n'y avait pas de différence significative de masses grasse et maigre entre les femelles des différentes races étudiées. En revanche, chez les mâles, le Pointer a proportionnellement moins de masse grasse et plus de masse maigre que les mâles des autres races testées.

SPEAKMAN *et al.* (2003) ont comparé la composition corporelle, également par DXA, de 105 chiens de trois formats différents : le chien Epagneul Papillon (poids moyen de 3 kg), le Labrador Retriever (poids moyen de 29,8 kg) et le Dogue Allemand (poids moyen de 62,8 kg). Le pourcentage de masse maigre a été en moyenne de 78,7% chez le Papillon, 84,2% chez le Labrador Retriever et de 88,7% chez le Dogue Allemand, respectivement. Il y a eu aussi des différences concernant la masse grasse : en moyenne, le chien Papillon en contenait 14,8%, le Labrador Retriever 15,7% et le Dogue Allemand 10,4%, respectivement. Dans cette étude, à état d'embonpoint équivalent, la teneur en matières grasses n'a pas été relative au format du chien mais semble être race-dépendante. Cependant plus récemment, aucune différence n'a été observée dans une étude récente comparant la composition corporelle mesurée par DXA de 25 Schnauzer nains (chien de petit format) et de 24 Labrador Retrievers (BRENTEN *et al.* 2014).

Ces trois études montrent que chez le chien, il convient de prendre en compte le facteur racial et/ou morphologique.

### c. Le sexe

Chez le chien, le dimorphisme sexuel n'est pas toujours très marqué mais il existe néanmoins. Par exemple, chez le Labrador Retriever, le poids moyen des mâles est plus élevé que celui des femelles, et ce, depuis le plus jeune âge (BOOLES *et al.* 1994). A 8 semaines de vie, les mâles pèsent 25% de plus que les femelles ( $5,63 \pm 0,23$  et  $4,5 \pm 0,23$ kg respectivement). Cette différence significative se maintient durant toute la croissance car la courbe de croissance est similaire dans les deux sexes. A 20 semaines de vie, la mesure de la composition corporelle de Labrador Retrievers par absorption biphotonique à rayons X (DXA) a montré que les mâles ont des masses musculaire et osseuse significativement plus importantes que les femelles (BOOLES *et al.* 1994). En revanche, la masse grasse n'était pas différente à cet âge. Ce fait a été également constaté pour les masses musculaire et osseuse, et par la même technique, dans une race proche, le Golden Retriever âgé de 1 à 4 ans, et ensuite, chez le Dogue allemand âgé de 12 mois et le Rottweiler âgé de 1 à 3 ans (LAUTEN *et al.* 2001). Cependant, si ces différences sont rapportées par kilogramme de poids, l'effet du genre n'est plus significatif.

Chez le Welsh Corgi, qui pèse entre 10 et 12 kg, aucune différence de composition corporelle entre les sexes n'a été observée par DXA (LAUTEN *et al.* 2001). Dans une étude récente sur la comparaison de la croissance et de la composition corporelle par DXA de deux races de chiens, le Labrador Retriever et le Schnauzer nain, BRENTEN *et al.* (2014) ont trouvé que le pourcentage de masse grasse et le pourcentage de masse maigre n'étaient pas différents dans les deux races, quel que soit le sexe, bien que les mâles étaient toujours plus lourds que les femelles tout au long de la croissance.

Il est important de souligner que dans toutes ces études, le nombre d'individus par race est peu élevé et que la variation individuelle de la composition corporelle est parfois très importante, même si l'on ne considère que la masse maigre. La variation de masse maigre au sein d'une race et d'un même sexe peut avoisiner 30% (LAUTEN *et al.* 2001).

De même, pour les races de chiens de grand format mentionnées ci-dessus, seuls les jeunes individus ont été étudiés, dont certains n'avaient pas encore atteint leur maturité. Il est possible que la différence entre les sexes puisse s'accroître avec l'âge.



#### d. L'âge

Le taux de matières grasses est faible à la naissance et augmente rapidement pendant le premier mois de vie. Les teneurs en matières grasses et en protéines ne semblent pas être liées au format du chien, au moins pendant la période de croissance (KIENZLE *et al.* 1998).

Il est admis que le vieillissement s'accompagne d'un changement de la composition corporelle chez le chien, comme dans beaucoup d'espèces. La quantité d'eau intracellulaire diminue de même que la teneur globale en protéines, alors que les réserves graisseuses augmentent (MEYER & STADTFELD 1980, ARMSTRONG & LUND 1996). Cependant, la généralisation des effets du vieillissement sur la composition corporelle n'est peut-être pas applicable à tous les formats ou à toutes les races de chiens.

Dans une étude de la composition corporelle de 40 Labrador Retrievers âgés de 2 à 13 ans, HARPER (1998) a montré par DXA qu'il existait une corrélation positive entre la masse grasse et l'âge et une corrélation négative entre la masse maigre et l'âge. Ainsi, le rapport entre masse grasse et masse maigre diminue avec l'âge comme le montre la figure 5.

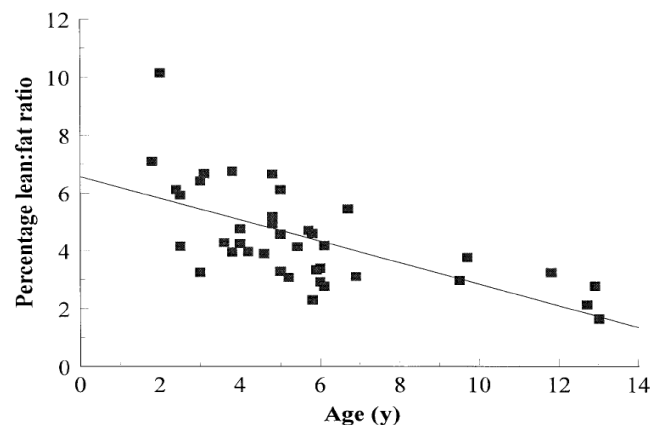


Figure 5 : Relation linéaire ( $R^2 = 0,4$ ) entre l'âge (axe des abscisses) et le rapport du pourcentage de masse maigre sur le pourcentage de masse grasse (axe des ordonnées) chez 40 chiens de race Labrador Retrievers (9 mâles dont 5 entiers et 31 femelles dont 14 entières) âgés de 2 à 13 ans (HARPER 1998).

Cela a été confirmé par KEALY *et al.* (2002) qui ont évalué les effets d'une restriction énergétique de 25% sur la longévité de 48 Labrador Retrievers, issus de 7 portées différentes. Par mesure de DXA, ils ont montré que le pourcentage de masse maigre diminuait significativement de façon progressive et, dans les deux groupes, depuis l'âge de 6 ans jusqu'à la mort des individus. A l'inverse, le pourcentage de masse grasse augmentait significativement et progressivement dans les deux groupes à partir de l'âge de 6 ans et jusqu'à la mort des individus, comme le montre la figure 6 (KEALY *et al.* 2002).

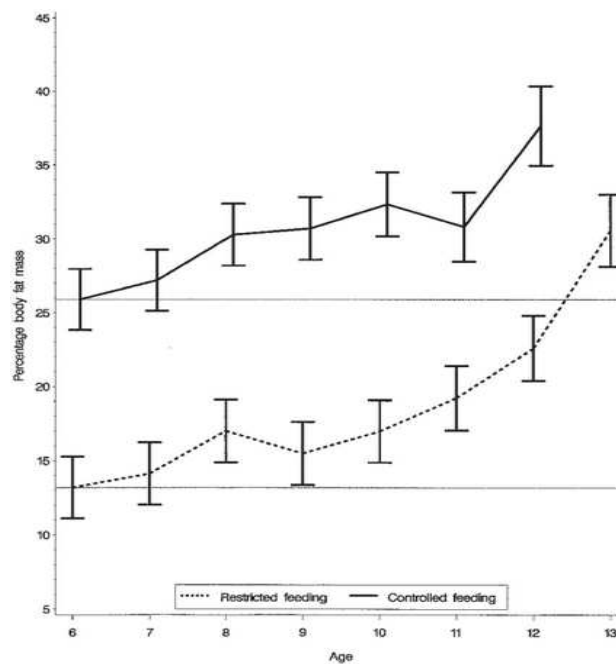


Figure 6 : Pourcentage de masse grasse (ordonnées) en fonction de l'âge du Labrador Retriever (abscisse). Le groupe test (ligne pointillée) a subi une restriction énergétique de 25% tout au long de leur vie par rapport au groupe contrôle (ligne continue) (KEALY *et al.* 2002).

Par tomодensitométrie, la comparaison des masses musculaires lombaires de Labradors Retrievers a montré qu'il y avait une diminution significative de ces masses entre de jeunes chiens âgés en moyenne de 2,4 ans (n=9) et des chiens âgés en moyenne de 9,1 ans (n=11) (HUTCHINSON *et al.* 2012).

Cependant, d'autres résultats contredisent les études présentées jusqu'ici. Dans une étude évaluant par DXA la composition corporelle de 35 Labradors Retrievers, aucune association n'a été mise en évidence entre la composition corporelle et l'âge des individus (SPEAKMAN *et al.* 2003). Dans cette même étude, la quantité de masse grasse n'a pas été associée à l'âge alors que la masse maigre a été positivement associée à celui-ci, chez 35 chiens papillons. En revanche, chez le Dogue Allemand, si la masse maigre n'a pas été associée avec l'âge, la masse grasse a augmenté significativement avec l'âge, dans cette race. Tous les chiens de cette étude vivaient en chenil, avec des conditions de vie et d'alimentation standardisées.

La disparité des races canines se traduit également par la durée de vie qui diffère selon les formats de chien. Il est admis que l'espérance de vie est négativement corrélée au format du chien (ADAMS *et al.* 2010 ; FICK *et al.* 2012). Les chiens de race géante, telle que le Dogue Allemand, ont une espérance de vie de 7 à 8 ans, alors que celle des petites races comme le Yorkshire terrier, avoisine les 12 ans (LEGRAND-DEFRETIN & MUNDAY, 1993). Il est donc difficile de comparer, à âge identique, des chiens de formats ou de race différents.

Les études publiées chez le chien montrent qu'il est nécessaire de spécifier les races, sexe et âge quand on mesure la composition corporelle. Il semble qu'il soit ainsi impossible de généraliser les résultats de composition corporelle obtenus dans un format et/ou une race de chien à l'ensemble du genre *Canis*.

## 5. Conclusion

La connaissance de la composition corporelle est un outil indispensable dans le suivi médical d'un individu, qu'il soit ou non en bonne santé. Les deux méthodes de référence actuelles sont la dilution isotopique et la DXA.

La BIA représente une méthode alternative aux deux méthodes de référence dans l'évaluation et le suivi de la composition corporelle. Elle n'utilise pas de prélèvements sanguins séquentiels ni de dosages biologiques, ne demande pas l'achat ni l'entretien d'un matériel coûteux hautement technique et pourrait, *a priori*, ne pas nécessiter d'anesthésie générale, chez le chien.

Il a été montré chez l'homme que l'utilisation de la BIA s'accompagnait d'une standardisation des mesures, propre à chaque matériel. Il a également été observé que l'interprétation des mesures était population-dépendante. Dans ces conditions, la BIA est précise et fiable pour la mesure de la composition corporelle.

Chez le chien, l'utilisation de la BIA est peu décrite et les résultats inconstants. La disparité des races et des formats dans cette espèce, et qui est unique dans le monde animal, pourrait expliquer des résultats parfois décevants. Cependant, la BIA peut potentiellement être utilisée chez le chien vigile, de façon indolore et en n'induisant qu'un minimum de stress. Son développement, en tenant compte de l'originalité de l'espèce, apparaît donc prometteuse, tant en recherche qu'en pratique clinique.

# **III. Validation d'équations prédictives de la composition corporelle du chien Beagle sain par bioimpédancemétrie monofréquence à 50 kHz (article 1)**

## **1. Contexte de la recherche**

Comme chez l'homme et d'autres espèces animales, la BIA est une méthode prometteuse dans l'évaluation et le suivi de la composition corporelle du chien. Les applications en médecine pourraient être nombreuses, tant chez l'animal sain que malade. Les études validant cette méthode chez le chien sont peu nombreuses, et le matériel validé n'est, soit plus disponible à la vente, soit n'a pas montré une fiabilité suffisante. Il a donc été nécessaire, pour pouvoir explorer les applications de cette technique chez le chien, de valider un nouvel appareil. Grâce à un contact avec le Professeur Jaffrin de l'Université Technologique de Compiègne, expert en matière de bioimpédance chez l'homme, nous avons été informés qu'un nouvel impédancemètre allait être mis sur le marché en France. La société BioparHom, conceptrice et productrice de l'appareil, a permis de concevoir ce projet de recherche.

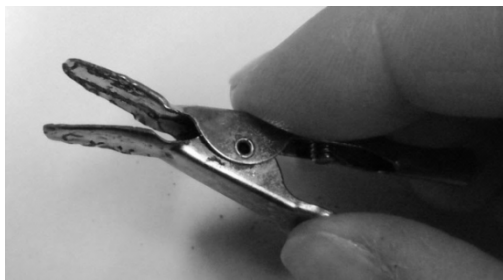
## **2. Etablissement du protocole**

Le **Z-Métrie**® est un dispositif médical de diagnostic de la composition corporelle par bioimpédance multifréquence. Ce matériel est un produit certifié médical de classe IIa (Certification EN 46000 ; Directive 93/42/CEE). L'appareil portatif fonctionne avec des batteries de 9V rechargeables et délivre un courant sinusoïdal de 77  $\mu$ A. Il peut émettre des fréquences comprises entre 1 et 1000 kHz. L'appareil est relié à l'individu au moyen de 4 câbles fixés sur le corps au moyen d'électrodes adhésives (à la cheville droite et au poignet droit). Il est relié à un ordinateur, les données collectées étant directement transmises au logiciel d'exploitation de l'appareil. Cet appareil a été validé chez l'homme au cours d'un essai clinique (2008-A01373-52, REYBEROL *et al.* 2010).

Pour la détermination de l'eau totale, le coefficient de détermination  $R^2$  a été de 0,88 chez les hommes et de 0,61 chez les femmes (en position debout) en comparaison avec le matériel de référence, l'impédancemètre Xitron 4200 (dont la fabrication est arrêtée à ce jour). En position debout, le coefficient de variation maximum a été de 1,8% et de 3,9% chez la femme et l'homme, respectivement.

Une adaptation du **logiciel d'exploitation** des données a été réalisée par la société BioparHom afin que l'appareil puisse restituer les mesures brutes de résistance et d'impédance, sans passer par l'interface développée pour la médecine humaine. Ces données ont été ensuite exportées sous forme de fichiers individuels Excel® (Microsoft) vers un ordinateur portable.

Les **électrodes** validées chez l'homme avec l'appareil étant autocollantes et comme il était nécessaire de ne pas raser les chiens pour pouvoir utiliser la méthode dans différentes conditions de terrain, il a fallu trouver des électrodes conductrices qui pouvaient être facilement appliquées et transmettre le courant sur une peau garnie de poils. Des pinces crocodiles, dont les dents ont été écrasées (Figure 7) ont été choisies, car elles offrent une facilité d'emploi et une bonne conductivité ; elles sont en outre aisément repositionnables et indolores pour l'animal

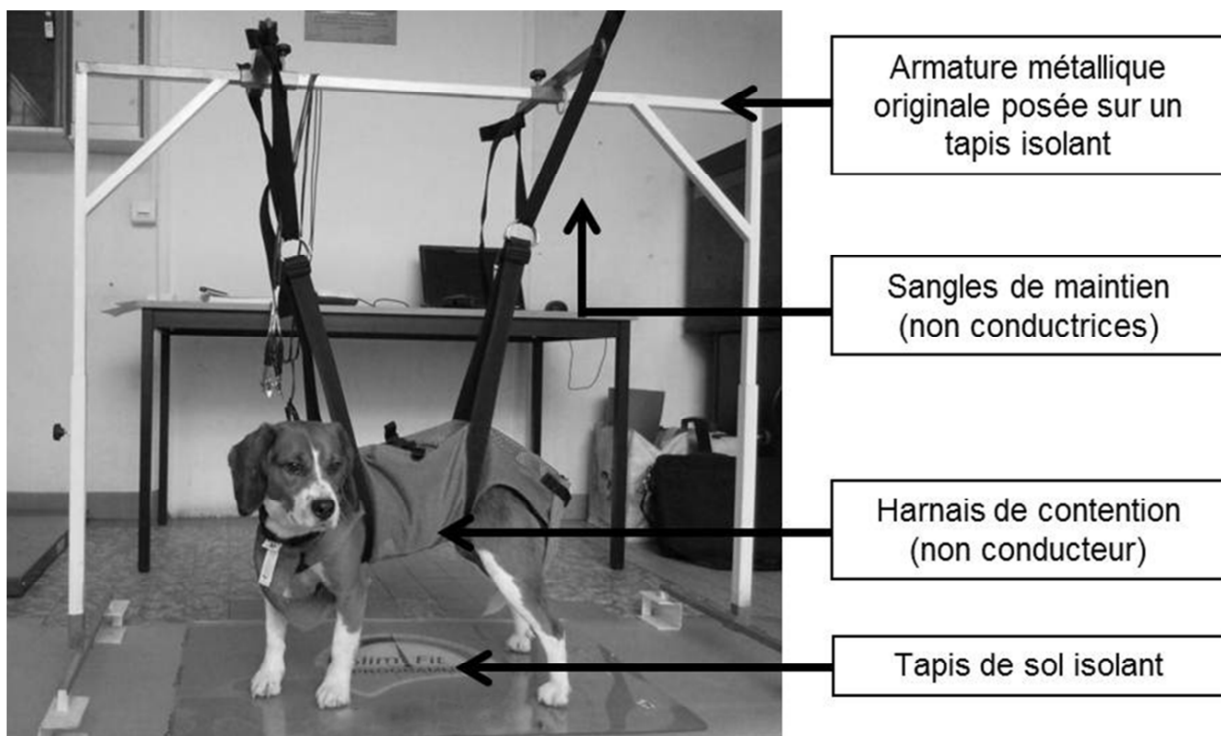


*Figure 7 : Photographie d'une électrode conductrice et émettrice, composée d'une pince-crocodile dont les dents ont été écrasées pour le confort de l'animal.*

Elles ont été entretenues par nettoyage au savon, trempage dans de l'alcool à 60%, séchage et conservées ensuite dans une boîte hermétique. Les 4 mêmes pinces ont servi pour toutes les prises de mesures et pour tous les chiens.

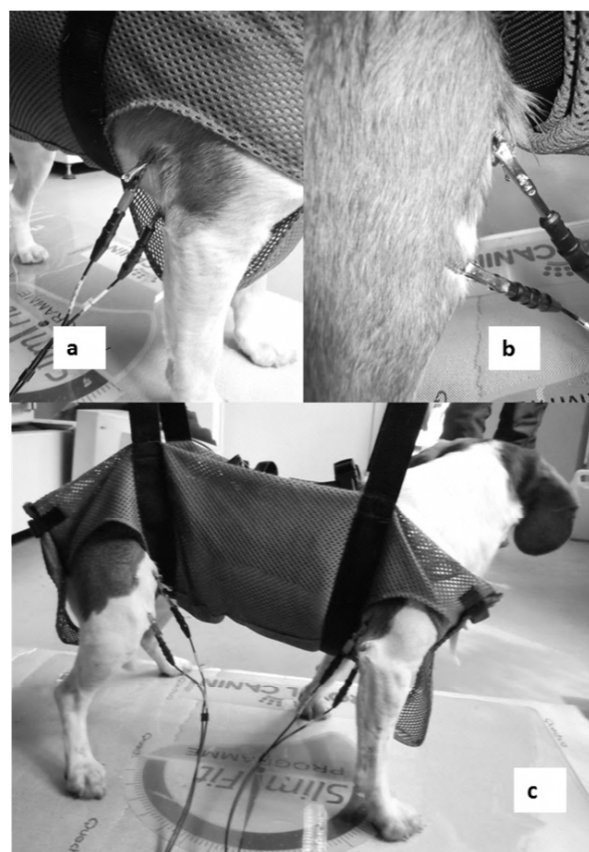
Pour s'adapter aux conditions de terrain, il était indispensable de prendre les mesures d'impédance sur un chien vigile. Pour ne pas modifier la conduction électrique, aucun opérateur ne peut maintenir le chien et la position de l'animal doit être standardisée. Il a donc été nécessaire de concevoir un **mode de contention**, électriquement isolé, dans lequel le chien pouvait se tenir tranquillement en position physiologique, debout sur ses quatre pattes et sans l'intervention d'un opérateur. L'ensemble de la procédure ne doit durer que quelques minutes.

Une armature métallique avait été soudée à l'attention du service de Cardiologie du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire de Maisons-Alfort, afin de maintenir en place les chiens pendant les échographies cardiaques. Ne servant pas, ce matériel a été gracieusement offert pour l'étude par le Professeur Valérie Chetboul, responsable de ce service. Quelques soudures ont permis de rigidifier l'ensemble afin de le poser de façon stable sur le sol. Le chien est maintenu dans un harnais et attaché à la structure à l'aide de sangles non conductrices. Il repose ainsi sur ses pattes, sur un tapis isolant, en légère traction vers le haut afin d'éviter la fuite de l'animal et de limiter ses mouvements (Figure 8). La structure métallique est elle-même posée sur un tapis isolant électriquement.



*Figure 8 : Photographie présentant le système de contention permettant de maintenir le chien en position debout confortable sans le maintien manuel par un opérateur.*

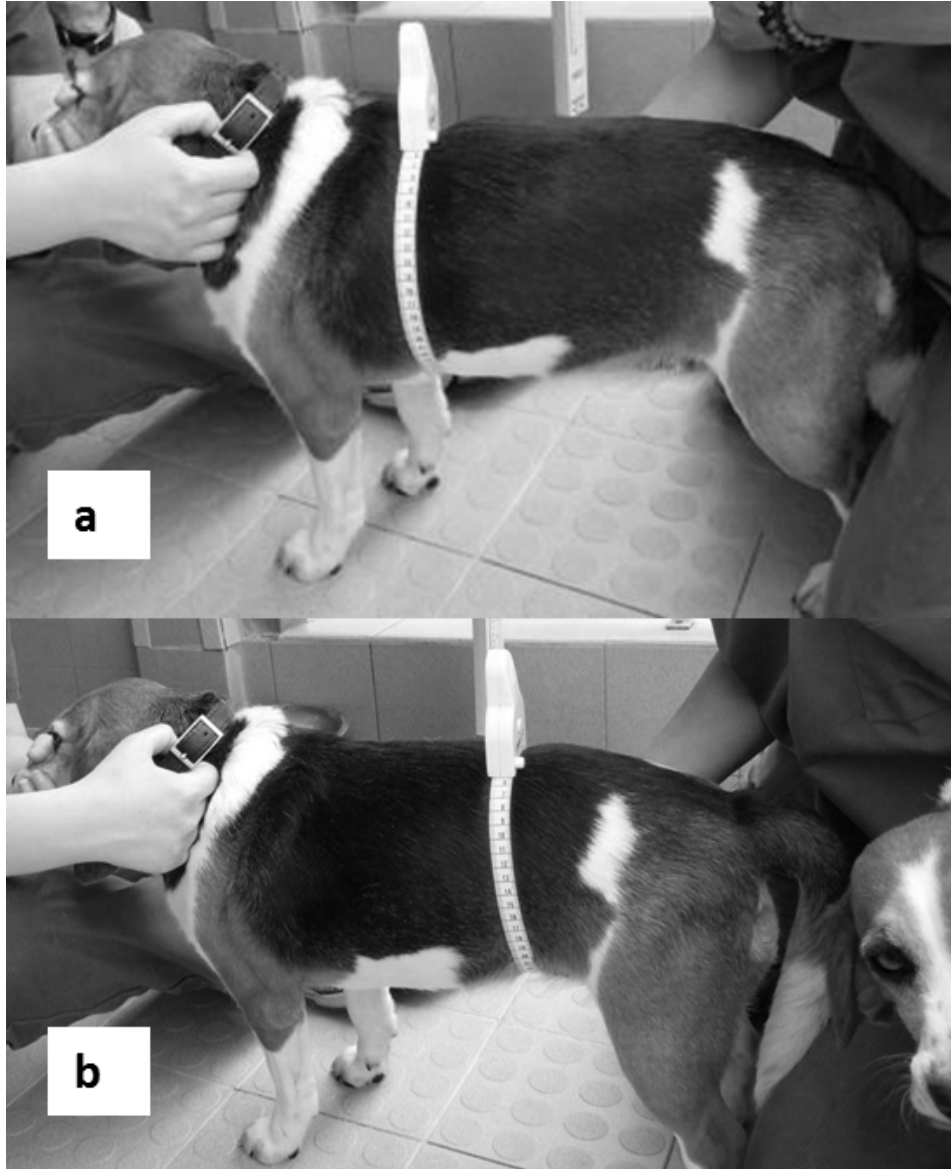
Le choix de la **position des électrodes** est fondé sur trois paramètres : il fallait un peu de peau lâche pour accrocher les électrodes, une faible densité de poils pour limiter la résistance à la conduction électrique et un endroit facilement identifiable pour standardiser la pose. Le choix s'est donc porté sur la partie supérieure des membres, qui est majoritairement composée d'os et de tendons donc variant peu quels que soient la masse musculaire et l'engraissement de l'animal. Ainsi, il a été choisi de placer les électrodes juste au-dessus du coude et de la rotule, à droite de l'animal (Figure 9). Cette disposition se rapproche au plus près de la théorie du cylindre exposée précédemment. L'écart entre les électrodes émettrices et réceptrices était de 3,5 cm, mesuré grâce à un étalon (largeur d'une règle). Ces repères anatomiques ont permis de positionner précisément et de façon reproductible, les électrodes. Le côté droit a été choisi pour éviter que le cœur ne soit sur la trajectoire du courant.



*Figure 9 : Photographies présentant la position des électrodes reliées à l'impédancemètre (a) sur le membre antérieur droit (b) sur le membre postérieur droit et (c) vue d'ensemble du dispositif. Le chien se tient debout, tranquille et sans l'aide d'un opérateur, pendant les 2-3 minutes que dure la procédure.*



Les **mesures morphologiques** des chiens ont aussi été standardisées. Ainsi, pour la mesure des périmètres thoracique et abdominal, un mètre souple auto-serrant a été utilisé et la mesure a été notée en phase d'expiration (figure 10).



*Figure 10 : Photographies présentant les modalités de mesure du périmètre thoracique (a), au niveau du processus xiphoïde, en phase d'expiration et du périmètre abdominal (b), au niveau du nombril, en phase d'expiration.*

La longueur de corps a été mesurée sur l'animal debout entre la protubérance occipitale externe du crâne et la base de la queue à l'aide d'une mètre souple. La tête était placée gentiment dans le prolongement du corps (figure 11).



*Figure 11 : La longueur du corps du chien est mesurée entre la protubérance occipitale externe et la base de la queue à l'aide d'un mètre de couturier.*

La hauteur au garrot a été mesurée grâce à une toise médicale (figure 12). Le chien se tenait debout en position physiologique et était légèrement maintenu pendant le coulissage du plateau de la toise, jusqu'au contact avec le garrot.



*Figure 12 : La toise médicale permet une mesure précise au millimètre près de la hauteur au garrot de chien.*

Ainsi, il a été possible de standardiser la prise de mesures morphologiques, la place des électrodes sur le corps et la position de l'animal pendant l'injection du courant. Les premiers essais ont montré que l'animal tolérait bien la contention et les électrodes le temps de la prise des mesures.

### **3. Article : mise en ligne prévue en juin 2015**

Edited by RBP

February 10, 2015

AJVR-14-07-0196R

## **Indirect prediction of total body water content in healthy adult Beagles by single-frequency bioelectrical impedance analysis**

Laurence Yaguiyan-Colliard DVM

Caroline Daumas DVM

Sana Bousbiat PhD

Michel Jaffrin PhD

Philippe Cardot PhD

Dominique Grandjean PhD

Nathalie Priymenko PhD

Patrick Nguyen PhD

Françoise Roux PhD

---

Received July 24, 2014.

Accepted December 1, 2014.

From the Breeding and Sport Medicine Unit, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris-Est, Maisons-Alfort, F-94704, France (Yaguiyan-Colliard, Grandjean); the Nutrition and Endocrinology Unit (Daumas, Nguyen) and Intensive Care Medicine Unit (Roux), École Nationale Vétérinaire de Nantes (ONIRIS), Atlanpole La Chantrerie, CS 40706, 44307 Nantes Cedex 3, France; UMR CNRS 7338, Biological Engineering Department, Université de Technologie de Compiègne, BP 20529, 60205 Compiègne Cedex, France (Bousbiat, Jaffrin); the Experimental and Clinical Respiratory Neurophysiology Unit, Faculté de Médecine Pierre and Marie Curie, Université Pierre et Marie Curie, UMRS-1158, 75634 Paris cedex 13 (Cardot); and the Nutrition Unit, École Nationale Vétérinaire de Toulouse, 31300 Toulouse, France (Priymenko).

Address correspondence to Dr. Yaguiyan-Colliard ([nutrition@colliard.fr](mailto:nutrition@colliard.fr)).

**Objective**—To develop equations for prediction of total body water (TBW) content in unsedated dogs by combining impedance (resistance and reactance) and morphological variables, and to compare the results of those equations with TBW content determined by deuterium dilution (TBW<sub>d</sub>).

**Animals**—26 healthy adult Beagles.

**Procedures**—TBW content was determined directly by deuterium dilution and indirectly with equations developed from measurements obtained by use of a portable bioelectric impedance device and morphological variables including body length, height, weight, and thoracic and abdominal circumferences.

**Results**—Impedance and morphological data from 16 of the 26 dogs were used to determine coefficients for the following 2 equations:  $TBW_1 = -0.019(BL^2/R) + -0.199(RC + AC) + 0.996W + 0.081H + 12.31$ ; and  $TBW_2 = 0.048(BL^2/R) + -0.144(RC + AC) + 0.777W + 0.066H + 0.031X + 7.47$ , where AC is abdominal circumference, H is height, BL is body length, R is resistance, RC is rib cage circumference, W is body weight; and  $X$  is reactance. Results for TBW<sub>1</sub> ( $R^2_1 = 0.843$ ) and TBW<sub>2</sub> ( $R^2_2 = 0.816$ ) were highly correlated with the TBW<sub>d</sub>. When the equations were validated with data from the remaining 10 dogs, the respective mean differences between TBW<sub>d</sub> and TBW<sub>1</sub> and TBW<sub>2</sub> were 0.17 and 0.11 L, which equated to a nonsignificant underestimation of TBW content by 2.4% and 1.6%, respectively.

**Conclusions and Clinical Relevance**—Results indicated that impedance and morphological data can be used to accurately estimate TBW content in adult Beagles. This method of estimating TBW content is less expensive and easier to perform than is measurement of TBW<sub>d</sub>, making it appealing for daily use in veterinary practice. (*Am J Vet Res* 2015;76:xxx–xxx).

---

#### ABBREVIATIONS

BCS Body condition score  
BIA Bioimpedance analysis  
CV Coefficient of variation  
DEXA Dual-energy X-ray absorptiometry  
FFM Fat-free mass  
FM Fat mass  
TBW Total body water

---

Body composition analysis is essential for meaningful medical follow-up of individual patients,<sup>1</sup> but measurement of body weight alone is not a reliable method of evaluation.

Therefore, simple and effective techniques for evaluation of body composition are highly desirable.

Traditionally, the body is divided into two compartments (the water compartment and tissue compartment). The water compartment, or TBW, is divided into extracellular and intracellular compartments. The extracellular compartment consists of plasma and interstitial fluids in which cells are found. The tissue compartment consists of the FM and fat-free mass FFM. The FM is regarded as an energy reserve, whereas the FFM represents the metabolically active fraction of a living body. Thus, FFM is a key component in a variety of physiological states (eg, growth, aging, and physical activity) as well as in various disease conditions (eg, metabolic diseases, cancer, and obesity). Because the FM does not contain any water, all the body water within the tissue compartment is contained within the FFM. Therefore, the FFM can be estimated by dividing the TBW mass by the mean hydration coefficient of the body. Subtraction of the TBW mass from the body weight yields the mass of the tissue compartment, and the tissue compartment mass minus the FFM yields the FM. Consequently, evaluation of TBW enables determination of the body composition<sup>2</sup> because the mean hydration rate is constant and is approximately 73.2% in humans<sup>3</sup> and 74.4% in dogs.<sup>4</sup>

Isotopic dilutions are generally used as reference techniques for evaluation of body fluid content. Deuterium dilution is frequently used to estimate TBW content because deuterium is a stable nontoxic compound that can be accurately analyzed in biologic fluids and its distribution in the body is the same as that of water. In humans and dogs, deuterium concentrations are commonly measured by mass spectrometry<sup>5,6</sup> or infrared spectrometry.<sup>7,8</sup> Deuterium concentrations in dogs have also been measured by Fourier-transform infrared spectroscopy.<sup>9</sup> Results of multiple studies<sup>10-12</sup> indicate that the deuterium dilution technique for estimation of TBW content in dogs is accurate to within 1% to 2% of the actual TBW content. However, the deuterium dilution technique is a lengthy and costly process that requires animals to be anesthetized, the collection of several blood samples, and expensive equipment that is rarely found in general veterinary practices, which makes it impractical in most situations. Isotopic dilution is most useful for validation of alternative techniques for evaluation of body composition, such as DEXA<sup>13,14</sup> or quantitative MRI.<sup>14</sup>

A 9-point scale has been proposed for assessment of the body condition of dogs that involves observation and palpation of the animal to evaluate the percentage of body fat.<sup>15</sup> This semiquantitative technique provides an estimate of FM. Each point in the scale differs approximately 5% from the contiguous points. A score of 5 on this scale corresponds to an ideal FM of  $17.5 \pm 10\%$  for male dogs and  $19.9 \pm 10\%$  for female dogs.<sup>15</sup> An algorithm-based system called S.H.A.P.E. that also uses observation and palpation has likewise been validated for estimation of the body composition of dogs.<sup>16</sup> Both techniques are easy, repeatable, and dependable when used by trained staff, and the results in terms of percentage of body weight can be correlated with those obtained by DEXA. However, only superficial muscles and fat volume are evaluated by those 2 methods, and the margin of error associated with the incomplete evaluation of body composition makes those techniques unsuitable for precise monitoring of changes in body composition over time.

Bioelectrical impedance is an alternative to dilution techniques and DEXA for evaluation of body composition. This technique has been validated and is routinely used to estimate the body composition of healthy and ill humans.<sup>17-19</sup> It is quick, noninvasive, and uses a low-intensity electrical current that is undetectable by the subject being evaluated. The equipment required for bioelectrical impedance is inexpensive. Bioelectrical impedance has been successfully used in unanesthetized dogs<sup>a</sup> and appears to be a viable method for the measurement of body composition in that species.

The principles of bioelectrical impedance have been described in detail.<sup>17,20,21</sup> Briefly, impedance is a measure of the opposition to an alternating electrical current and is composed of tissue resistance and tissue reactance. It is directly proportional to tissue length and inversely proportional to tissue diameter.<sup>20</sup> A tissue has a certain degree of resistance to the passage of a current depending on its electrolyte and water content. Fat mass has a high degree of resistance to current transmission (ie high impedance), and cellular membranes behave like electrical conductors and generate tissue reactance. Currents with low frequencies (< 5 kHz) do not penetrate through cell membranes and remain in the extracellular space, whereas currents with high frequencies (> 50 kHz) pass through both the extracellular and the intracellular spaces.<sup>22</sup>

Single-frequency BIA with a current frequency of 50 kHz has been used and validated for evaluation of TBW content in healthy men with a mean error range of  $-3.3\%$  to  $1.1\%$ .<sup>23–27</sup> In the earliest study,<sup>28</sup> 2 electrodes were used to perform single-frequency BIA, but the technique evolved and is now commonly performed with 4 electrodes.<sup>29</sup> The use of single-frequency BIA for evaluation of TBW content has been validated with various types of equipment for several species including dogs,<sup>30,31,b</sup> which resulted in the derivation of linear regression equations for estimation of TBW content. Unfortunately, those equations can no longer be used because the equipment used to derive them is no longer available or the results have been found to be inconsistent and unreliable,<sup>32</sup> most likely because some measurements were obtained from anesthetized animals and others were obtained from unanesthetized animals. Because the regression equations traditionally used to estimate TBW content from single-frequency BIA were developed on the basis of results obtained from protocols and equipment that are now outdated, new equations associated with currently available protocols and equipment need to be developed.

Single-frequency BIA is an easy method for assessment of body composition that could be implemented in daily veterinary practice. The objectives of the study reported here were to develop equations for prediction of TBW content in unsedated healthy adult dogs by the use of single-frequency BIA with currently available equipment and to compare the results of those equations with the TBW content determined by deuterium dilution (TBW<sub>d</sub>).

## Materials and Methods

**Animals**—Twenty-six adult Beagles (2 intact females, 9 neutered females, and 15 intact males) with a mean  $\pm$  SEM age of  $5.9 \pm 2.7$  years and weight of  $13.81 \pm 4.27$  kg and a mean BCS of 7 (range, 5 to 9) were used in the study. All dogs were housed in accordance with the regulations for animal welfare established by the French Ministry of Agriculture and Fisheries. All experimental protocols adhered to European Union guidelines and were approved by the Animal Use and Care Advisory Committee of the University of Nantes.

**Deuterium dilution protocol**—Total body water content was measured directly by use of an isotopic dilution of deuterium (TBW<sub>d</sub>) as described.<sup>9</sup> Food was withheld from each dog for 12 hours prior to injection of the deuterium tracer. Each dog was individually housed in a cage without access to water to allow for body water equilibration beginning 2 hours before and lasting until 4 hours after injection of the deuterium tracer. Prior to administration of the deuterium, a blood sample (2 mL) was collected into an evacuated EDTA-containing blood sample tube by jugular venipuncture for determination of Hct, and blood glucose, total protein, albumin, sodium, potassium, and chloride concentrations. The deuterium tracer was prepared with deuterium<sup>c</sup> (99.9% H/H<sup>2</sup>; 500 mg/kg) and saline (0.9% NaCl) solution and administered by SC injection at the dorsal aspect of the cervical region. Syringes were weighed before and after tracer injection to determine the dose administered to within 0.1 g. Another blood sample (5 mL) was collected into an evacuated EDTA-containing tube by jugular venipuncture immediately before and at 4 hours after the tracer injection. Blood samples were centrifuged at 2,000 X g for 10 minutes; then the plasma was harvested from each sample and stored in sealed vials at  $-20^{\circ}\text{C}$  until analysis. For each sample, plasma deuterium concentration was assayed in duplicate by use of Fourier-transform infrared spectroscopy as described.<sup>9</sup>

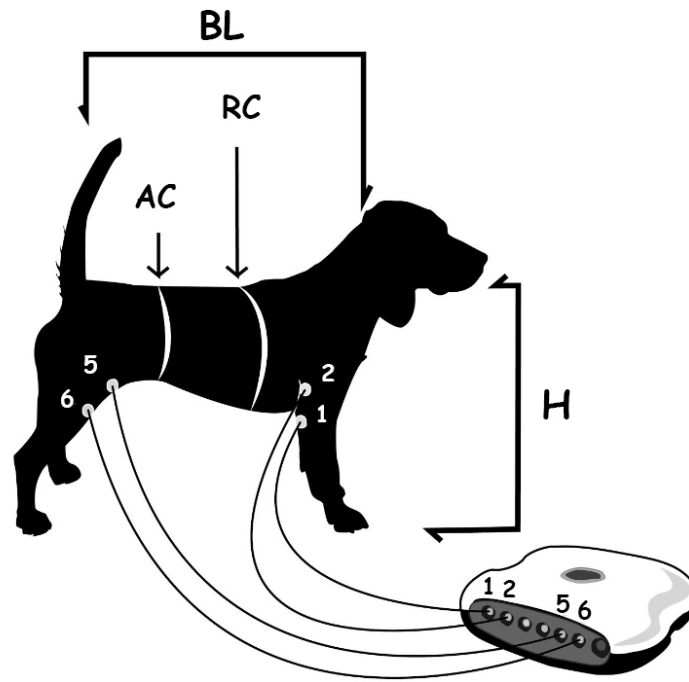
**Morphological measurements**—Each dog was weighed and measured after injection of the deuterium tracer. One trained veterinarian (LYC) assigned a BCS to each dog in accordance with the 9-point scale developed by Laflamme.<sup>15</sup> The body length from the external occipital protuberance to the base of the tail was measured with a flexible tape measure. A self-rewinding tape measure<sup>d</sup> was used to measure the circumference of the rib cage at the level of the xiphoid process and the circumference of the abdomen at the level of the umbilicus with



the dog at full expiration. The height of each dog from the ground to the dorsal-most aspect of the scapula was measured with a stadiometer.<sup>e</sup> Weight was measured to the nearest 0.01 kg, and all other measurements were measured to the nearest 0.1 cm.

**Single-frequency BIA protocol**—For single-frequency BIA, each dog was placed in a nonelectrically conductive harness<sup>f</sup> that was suspended from a metal framework so that all 4 of its feet were touching an electrical insulating mat, but its movement was otherwise restricted. Care was taken to ensure that the suspended dog could not contact any electrically conductive object.

Ultrasound transmission gel<sup>g</sup> was applied to the hair dorsal to the elbow joint of the right forelimb and dorsal to the patella of the right hind limb, and 4 standard metal crocodile clips<sup>h</sup> (total length, 50 mm) were used to attach the electrodes to the dog. Two gel-coated clips, 1 for emission and 1 for reception, were clamped on the gel-moistened hair of each right leg in accordance with the cylinder theory for bioelectric impedance recommended for use in humans (**Figure 1**).<sup>i</sup> Voltage electrodes were positioned 3.5 cm dorsal to the current electrodes. The indentations created by the jaws of the crocodile clips were carefully smoothed to avoid pain induction without altering electrical conductivity. A bioelectrical device<sup>j</sup> was used to apply a 77- $\mu$ A current with a frequency of 50 kHz to the electrodes and 5 sequential impedance measurements were obtained for each dog. Data were transmitted directly from the analyzer to a computer and stored in a spreadsheet program.<sup>k</sup> Each dog was restrained in the harness for approximately 5 minutes for the single-frequency BIA.



*Figure 1—Diagram illustrating the morphological measurements and electrode configuration for single-frequency BIA that were used to predict the TBW content of 26 healthy adult Beagles. Body length (BL) was measured from the external occipital protuberance to the base of the tail; body height (H) was measured from the ground to the dorsal-most aspect of the scapula; and the rib cage circumference (RC) was measured at the level of the xiphoid process and the abdominal circumference (AC) was measured at the level of the umbilicus with the dog at full expiration. For single-frequency BIA, each dog was placed in a nonelectrically conductive harness that was suspended from a metal framework so that all 4 of its feet were touching an electrical insulating mat, but its movement was otherwise restricted. Care was taken to ensure that the suspended dog could not contact any electrically conductive object. The voltage electrodes (2 and 5) were attached to the hair 3.5 cm dorsal to the current electrodes (1 and 6) on the right forelimb and hind limb. All electrodes were attached to the hair with standard metal crocodile clips that were moistened with ultrasound transmission gel. A bioelectrical device was used to apply a 77- $\mu$ A current with a frequency of 50 kHz to the electrodes, and 5 sequential impedance measurements were obtained for each dog.*

**Statistical analysis**—The 5 sequential single-frequency BIA measurements obtained for each of the 26 study dogs were used to evaluate the repeatability of the measurement process by calculation of the CV. For both resistance and reactance variables, the CV was calculated as the SD for the variable divided by the mean for that variable.

Following completion of data collection, the dogs were separated into 2 groups in a random manner by means of a random number generator. For a group of 16 dogs, the  $TBW_d$  was used as the outcome, or dependent variable, and the morphological and single-frequency BIA data were fit into 2 linear regression models previously described<sup>33</sup> to determine the associated regression coefficients that best estimated the TBW content. The first equation ( $TBW_1$ ) was the same as the second equation ( $TBW_2$ ) except it did not include reactance. Briefly the equations were defined as follows:  $TBW_1 = a(BL^2/R) + b(RC + AC) + cW + dH + f$ , and  $TBW_2 = a(BL^2/R) + b(RC + AC) + cW + dH + eX + f$ , where a, b, c, d, e, and f are regression coefficients; AC is the abdominal circumference; BL is the body length; H is the height; R is resistance; RC is rib-cage circumference; W is body weight; and X is reactance.

Data from the remaining 10 dogs were used to validate  $TBW_1$  and  $TBW_2$  by the use of a paired *t* test to compare the TBW content estimated by each of the 2 regression equations with the  $TBW_d$ . Linear regression was then used to determine the correlation and coefficient of determination ( $R^2$ ) between the TBW content predicted by each of the regression equations and the  $TBW_d$ . The Bland-Altman method<sup>34</sup> was used to assess the agreement between the TBW content predicted by each of the regression equations and  $TBW_d$ . For all analyses, values of  $< 0.05$  were considered significant.

## Results

**Dogs**—Results of blood samples obtained prior to injection of the deuterium tracer indicated that the Hct and blood glucose, total protein, albumin, sodium, potassium, and chloride concentrations were within the respective reference ranges for all dogs (data not shown). All dogs remained fairly quiet in the restraining device without investigator interference and tolerated the electrodes well throughout the duration of the single-frequency BIA.

**Single-frequency BIA and morphological measurements**—The single-frequency BIA and morphological variables for all dogs were summarized (**Table 1**). The repeatability of the single-frequency BIA measurements was good; the median CV was 1.60% (range, 0.22% to 3.15%) for resistance and 2.20% (range, 0.42% to 6.17%) for reactance.

<b>Variable</b>	<b>Dogs used to determine regression coefficients for predictive equations</b>	<b>Dogs used to validate predictive equations</b>
Resistance ( $\Omega$ )	$152.04 \pm 24.32$	$139.37 \pm 14.16$
Reactance ( $\Omega$ )	$37.26 \pm 11.80$	$32.11 \pm 4.68$
Body weight (kg)	$13.78 \pm 4.28$	$13.85 \pm 4.48$
Body length (cm)	$53.16 \pm 5.11$	$51.13 \pm 3.96$
Body height (cm)	$38.17 \pm 3.33$	$37.94 \pm 2.02$
Rib cage circumference (cm)	$56.99 \pm 5.33$	$58.55 \pm 7.27$
Abdominal circumference (cm)	$51.69 \pm 8.06$	$52.67 \pm 9.56$
TBW <sub>d</sub> (L)	$7.13 \pm 2.13$	$6.86 \pm 1.46$
TBW <sub>1</sub> (L)	$7.18 \pm 2.08$	$6.69 \pm 1.46$
TBW <sub>d</sub> – TBW <sub>1</sub> (L)	$-0.05 \pm .047$	$-0.17 \pm 0.59$
TBW <sub>2</sub> (L)	$7.14 \pm 2.10$	$6.75 \pm 1.61$
TBW <sub>d</sub> – TBW <sub>2</sub> (L)	$-0.01 \pm 0.39$	$-0.11 \pm 0.69$

*Table 1—Mean  $\pm$  SD for single-frequency BIA and morphological variables and TBW content for 16 healthy adult Beagles used to determine the regression coefficients for 2 linear regression equations developed for prediction of TBW content and 10 healthy adult Beagles used to validate those regression equations.*

**Correlation between TBW<sub>d</sub> and the predictive equations**—The regression equations that provided the best fit of the single-frequency BIA and morphological measurement data for prediction of TBW content were as follows:  $TBW_1 = -0.019(BL^2/R) + -0.199(RC + AC) + 0.996W + 0.081H + 12.31$  and  $TBW_2 = 0.048(BL^2/R) + -0.144(RC + AC) + 0.777W + 0.066H + 0.031X + 7.47$ . When those 2 equations were used to predict the TBW content for the group of 16 dogs that provided the data used to determine the regression coefficients, the TBW contents predicted by  $TBW_1$  and  $TBW_2$  were 0.7% ( $P = 0.674$ ) and 14% ( $P = 0.919$ ), respectively, higher than the TBW<sub>d</sub> (Table 1), but neither of those differences was significant.

For the 10 dogs that were used to validate  $TBW_1$  and  $TBW_2$ , the respective correlations between the predicted TBW content and the TBW<sub>d</sub> were assessed graphically (**Figure 2**).

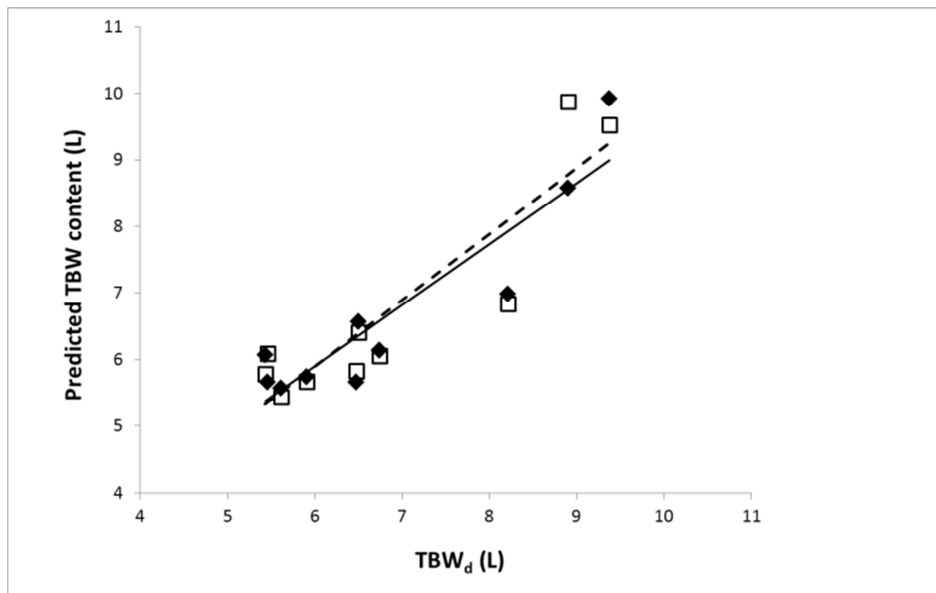


Figure 2—Scatterplot of TBW content predicted by each of 2 linear regression equations ( $TBW_1$  [black diamonds] and  $TBW_2$  [white squares]) versus the TBW content measured by deuterium dilution ( $TBW_d$ ) for 10 healthy adult Beagles. The first equation ( $TBW_1$ ) had the same format as the second equation ( $TBW_2$ ) except it did not include reactance. The equations were as follows:  $TBW_1 = -0.019(BL^2/R) + -0.199(RC + AC) + 0.996W + 0.087H + 12.31$ , and  $TBW_2 = 0.048(BL^2/R) + -0.144(RC + AC) + 0.777W + 0.066H + 0.031X + 7.47$ , where AC is the abdominal circumference; BL is the body length; H is the height; R is resistance; RC is the rib-cage circumference; W is body weight; and X is reactance. The line of best fit for the data for  $TBW_1$  (solid black line) has an equation of  $0.919x + 0.385$  and  $R^2_1 = 0.843$  and that for  $TBW_2$  (dashed line) has an equation of  $0.997x - 0.095$  and  $R^2_2 = 0.816$ . Because  $R^2_1 > R^2_2$ , these findings suggested that  $TBW_1$  fit the data slightly better than did  $TBW_2$ .

The coefficient of determination for both  $TBW_1$  ( $R^2_1 = 0.843$ ) and  $TBW_2$  ( $R^2_2=0.816$ ) was very high, which indicated that the TBW content predicted by both equations was highly correlated with the  $TBW_d$ . However, for this group of dogs, the TBW content predicted by  $TBW_1$  and  $TBW_2$  was 2.4% ( $P = 0.378$ ) and 1.6% ( $P = 0.619$ ), respectively, lower than the  $TBW_d$  (Table 1), although neither difference was significant. Assessment of the Bland-Altman plots for this group of dogs similarly indicated a high level of agreement between the respective TBW contents predicted by  $TBW_1$  and  $TBW_2$  and the  $TBW_d$ ; the mean difference between the predicted TBW content and the  $TBW_d$  did not exceed 2 SD from the mean for any of the 10 dogs (**Figure 3**).

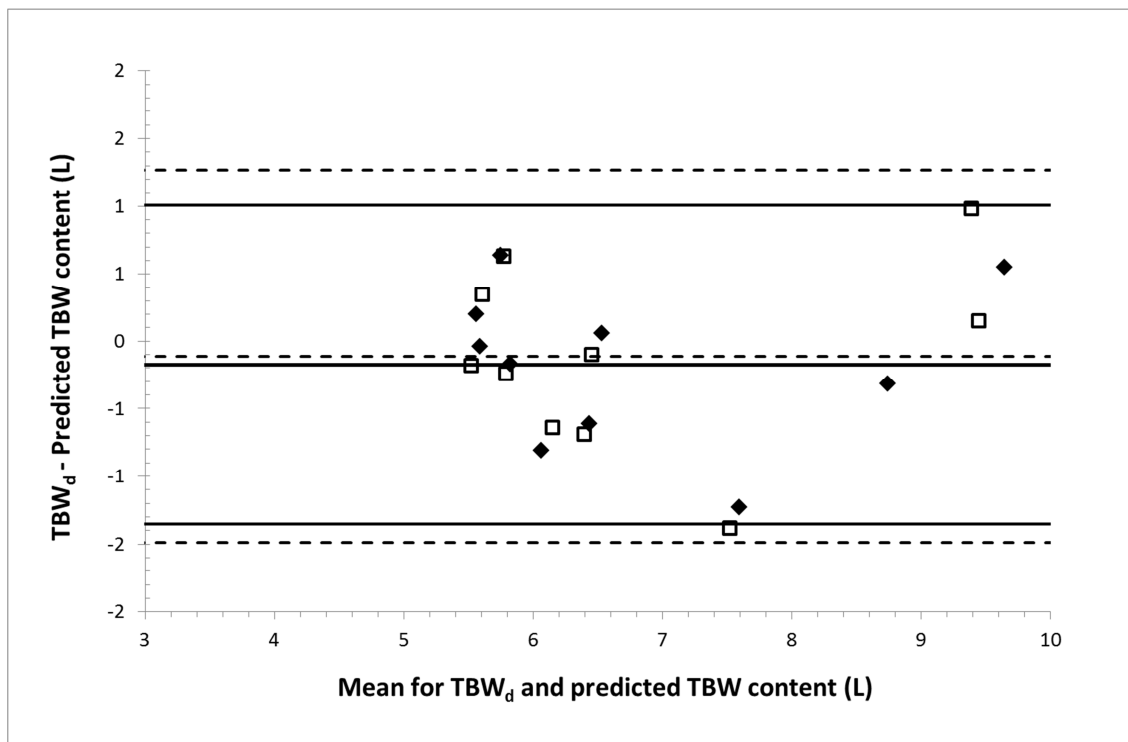


Figure 3—Bland-Altman plot of the respective differences between  $TBW_d$  and  $TBW_1$  (black diamonds) and  $TBW_2$  (white squares) versus the respective means for  $TBW_d$  and  $TBW_1$  and  $TBW_2$  for the dogs of Figure 2. The middle solid line represents the mean difference between  $TBW_d$  and  $TBW_1$ , and the 2 outer solid lines delimit the 95% limits of agreement (mean  $\pm$  2 SD) for that mean. The middle dashed line represents the mean difference between  $TBW_d$  and  $TBW_2$ , and the 2 outer dashed lines delimit the 95% limits of agreement for that mean. See Figure 2 for remainder of key

## Discussion

Results of the present study indicated that TBW content measured by deuterium dilution (TBW<sub>d</sub>; gold standard) was highly correlated with that predicted by each of 2 linear regression equations that included results of single-frequency BIA and morphological measurements of healthy adult Beagles. The first equation (TBW<sub>1</sub>) contained the same predictors as did the second equation (TBW<sub>2</sub>) except it did not include reactance. The TBW content predicted by both TBW<sub>1</sub> and TBW<sub>2</sub> were highly correlated with TBW<sub>d</sub>. Thus, the use of morphological measurements and results of single-frequency BIA may be an inexpensive and practical method for estimating the TBW content of canine patients in clinical veterinary practice.

In the present study, BIA with a frequency of 50 kHz was successfully performed in unsedated healthy adult dogs with minimal stress by the use of a simple restraint system that restrained the dog in a physiological standing position for the few seconds necessary for the acquisition of BIA measurements. The electrode clips were slightly modified so that they could be used without causing any discomfort. This was important because patient discomfort would hinder the adoption of single-frequency BIA for use in clinical practice.

Investigators of another study<sup>35</sup> estimated the body fat percentage in unsedated dogs by the use of handheld BIA device. In that study,<sup>35</sup> 4 electrodes were positioned in a longitudinal manner along the dorsal lumbar region in direct contact with the skin, and a 70% isopropyl alcohol solution was used as the conductive agent on the electrodes. To our knowledge, the present study is the first to compare the TBW content of dogs estimated by the use of previously described linear regression equations<sup>a</sup> that involved the results of morphological measurements and single-frequency BIA with the TBW<sub>d</sub>.

Although the BIA device used the present study was capable of inducing currents with varying frequencies, we chose to measure resistance and reactance only at 50 kHz because that is the standard frequency used for estimation of TBW content by BIA.<sup>22</sup> Indeed, the objectives for this study were to standardize the single-frequency BIA protocol for estimating TBW content in healthy dogs and evaluate new equipment that could be used in field or practice conditions.

The median CVs for resistance (1.60%) and reactance (2.20%) for the single-frequency BIA measurements in the present study were low, which indicated that the precision, or repeatability, of the measurements obtained by the BIA device was good. In a study<sup>35</sup> of 46 dogs of various breeds, the median CV was 1.64% (range, 0.00% to 5.53%) for 5 serial measurements obtained by the use of a handheld BIA device. In another study<sup>16</sup> in which the same handheld BIA device was used to obtain 5 serial measurements from 24 dogs with varying body conditions, the median CV was 2.20% (range, 0.00% to 11.2%). Thus, it appears that the repeatability of measurements obtained by BIA is good for dogs regardless of the breed or body condition.

In the present study, we randomly divided the study population into 2 groups. We used the data from the group of 16 dogs to determine the regression coefficients for TBW<sub>1</sub> and TBW<sub>2</sub>, and the data from the group of 10 dogs to validate the resulting equations. During the validation phase of the study, TBW<sub>1</sub> underestimated the TBW content by 0.17 L (2.4%) and TBW<sub>2</sub> underestimated TBW content by 0.11 L (1.6%), but neither prediction deviated significantly from TBW<sub>d</sub>. In fact, the mean deviations of TBW<sub>1</sub> and TBW<sub>2</sub> from TBW<sub>d</sub> in the present study were lower than the mean deviation of TBW content predicted by means of multifrequency BIA from TBW<sub>d</sub> (2.59%) for dogs in another study.<sup>1</sup>

Bioelectrical impedance analysis can be affected by many factors including electrode positioning, instrumentation, ambient temperature, conductance of the subject's footing (eg, examination table), and the subject's hydration status, consumption of food and water, recent physical activity, posture, and skin temperature.<sup>25,36–38</sup> In the present study, we tried to standardize and control as many of those variables as possible. Furthermore, results of the biochemical analyses indicated that all variables assessed were within the respective reference ranges for all dogs, which suggested that none of the dogs had biochemical abnormalities that could have altered the conduction of the electric current in the body.

In humans, the use of BIA data to predict body composition requires the development of separate equations on the basis of sex, age, ethnicity, and physical activity.<sup>39</sup> Results of a study<sup>31</sup> conducted to support the licensing of a BIA device indicate a correlation of 0.64 between single-frequency BIA at 50 kHz and a deuterium dilution technique for estimation of body fat percentage in dogs of various sizes. However, when the body fat percentage



estimated by the use of results obtained by that equipment was compared with the body fat percentage measured by DEXA for various breeds of dogs, the results obtained by the BIA device were found to be unreliable and inappropriate for clinical practice.<sup>32</sup> Consequently, the equations developed and validated for prediction of TBW content in the present study should not be considered externally valid for breeds other than Beagles.

Limitations of the present study include a small sample size and the fact that most of the study subjects were healthy overweight dogs of a single breed. Further research is necessary to determine whether TBW content predicted by the equations developed and validated in the present study by the use of morphological data and results of single-frequency BIA is accurate across a large number of dogs of various breeds with varying BCS and health status.

In the present study, results obtained from morphological measurements and single-frequency BIA at 50 kHz were used to develop and validate linear regression equations that accurately predicted TBW content in healthy adult Beagles. All measurements were obtained in unsedated dogs in a natural standing position. The protocol described in this study can be used in clinical practice because it was quick and well tolerated by dogs.

### **Aknowledgments**

This manuscript represents a portion of a dissertation submitted by Dr. Yaguiyan-Colliard to the Université Pierre-et-Marie-Curie L'école doctorale physiologie, physiopathologie et thérapeutique (ED 394) as partial fulfillment of the requirements for a Doctor of Philosophy degree.

Plates for biochemical analyses were provided by IDEXX France.

The authors thank Lauréline Colliard for the creation of Figure 1 and Marc Chodkiewicz for help with manuscript preparation.

The authors declare that they have no competing interests.

### **Footnotes**

---

a. Okawa M, Ban T, Umeda T, et al. Investigation of percent body fat in dogs visiting veterinary practices in Japan (abstr). *J Vet Intern Med* 2007;21:656.

b. Burkholder WJ. *Body composition of dogs determined by carcass composition analysis, deuterium oxide dilution, subjective and objective morphometry, and bioelectrical impedance*. PhD thesis. Blacksburg, Va: Virginia Polytechnic Institute and State University, 1994;1–357.

c. Eurisotop, Gif-sur-Yvette, France.

d. Holtex +, Aix En Provence, France.

- e. Tanita France SA, Neuilly Sur Seine, France.
- f. K9Surf Hoist, Droitwich, England.
- g. Aquasonic, Parker Laboratories Inc, Fairfield, NJ.
- h. Reference No. 431630, Duseaux Bellière (DBELEC), Le Havre, France.
- i. Moreno MV. *Etude de la composition corporelle par impédancemétrie sur des adultes et des enfants sains et pathologiques*. PhD thesis. Compiègne, France: Université de Technologie de Compiègne, 2007;1–138.
- j. Z-Métrie, BioparHom, Bourget du Lac, France.
- k. Microsoft Office Excel, Microsoft France, Issy Les Moulineaux, France.
- 1. Elliott D. *Multifrequency bioelectrical impedance analysis in healthy cats and dogs*. PhD thesis. Davis, Calif: University of California-Davis, 2001;1–234.

---

## References

1. Thibault R, Pichard C. The evaluation of body composition: a useful tool for clinical practice. *Ann Nutr Metab* 2012;60:6–16.
2. Wang Z, Deurenberg P, Wang W, et al. Hydration of fat-free body mass: review and critique of a classic body-composition constant. *Am J Clin Nutr* 1999;69:833–841.
3. Pace N, Kline L, Schachman HK, et al. Studies on body composition: IV. Use of radioactive hydrogen for measurement in vivo of total body water. *J Biol Chem* 1947;168:459–469.
4. Harrison HE, Darrow DC, Yannet H. The total electrolyte content of animals and its probable relation to the distribution of water. *J Biol Chem* 1936;113:515–529.
5. Schloerb PR, Friis-Hansen RI, Edelman IS, et al. The measurement of total body water in the human subject by deuterium oxide dilution. *J Clin Invest* 1950;29:1296–1310.
6. Mawby DI, Bartges JW, d'Avignon A, et al. Comparison of various methods for estimating body fat in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004;40:109–114.
7. Lukaski HC, Johnson PE. A simple, inexpensive method of determining total body water using a tracer dose of D2O infrared absorption of biological fluids. *Am J Clin Nutr* 1985;41:363–370.
8. Zweens J, Frankena H, Reicher A, et al. Infrared-spectrometric determination of D<sub>2</sub>O in biological fluids. Reappraisal of the method and application to the measurement of total body water and daily water turnover in the dog. *Pflugers Arch* 1980;385:71–77.
9. Ferrier L, Robert P, Dumon H, et al. Evaluation of body composition in dogs by isotopic dilution using a low-cost technique, Fourier-transformed infrared spectroscopy. *J Nutr* 2002;132:1725S–1727S.
10. Painter EE. Total body water in the dog. *Am J Physiol* 1940;129:744–755.

11. Moore FD, Muldowney FP, Haxhe JJ, et al. Body composition in the dog. I. Findings in the normal animal. *J Surg Res* 1962;2:245–253.
12. Burkholder WJ, Thatcher CD. Validation of predictive equations for use of deuterium oxide dilution to determine body composition of dogs. *Am J Vet Res* 1998;59:927–937.
13. Son HR, d’Avignon DA, Laflamme DP. Comparison of dual-energy x-ray absorptiometry and measurement of total body water content by deuterium oxide dilution for estimating body composition in dogs. *Am J Vet Res* 1998;59:529–532.
14. Zanghi BM, Cupp CJ, Yuanlong P, et al. Noninvasive measurements of body composition and body water via quantitative magnetic resonance, deuterium water, and dual-energy x-ray absorptiometry in awake and sedated dogs. *Am J Vet Res* 2013;74:733–743.
15. Laflamme D. Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Pract* 1997;22(4):10–15.
16. German AJ, Holden SL, Moxham GL, et al. A simple reliable tool for owners to assess the body condition of their dog or cat. *J Nutr* 2006;136:2031S–2033S.
17. Jaffrin MY. Body composition determination by bioimpedance: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009;12:482–486.
18. Casey AF. Measuring body composition in individuals with intellectual disability. *J Obes* [serial online] 2013;2013:628428. Available at: [www.hindawi.com/journals/jobe/2013/628428/](http://www.hindawi.com/journals/jobe/2013/628428/). Accessed Jul 24, 2014.
19. Böhm A, Heitmann BL. The use of bioelectrical impedance analysis for body composition in epidemiological studies. *Eur J Clin Nutr* 2013;67:S79–S85.
20. Nyboer J. Workable volume and flow concepts of bio-segments by electrical impedance plethysmography. *TIT J Life Sci* 1972;2:1–13.
21. Kushner RF. Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. *J Am Coll Nutr* 1992;11:199–209.
22. Patel RV, Matthie JR, Withers PO, et al. Estimation of total body and extracellular water using single- and multiple-frequency bioimpedance. *Ann Pharmacother* 1994;28:565–569.
23. Kushner RF, Schoeller DA. Estimation of total body water by bioelectrical impedance analysis. *Am J Clin Nutr* 1986;44:417–424.
24. van Marken Lichtenbelt WD, Westerterp KR, Wouters L, et al. Validation of bioelectrical-impedance measurements as a method to estimate body-water compartments. *Am J Clin Nutr* 1994;60:159–166.

25. Gudivaka R, Schoeller DA, Kushner RF, et al. Single- and multifrequency models for bioelectrical impedance analysis of body water compartments. *J Appl Physiol* 1999;87:1087–1096.
26. Buchholz AC, Bartok C, Schoeller DA. The validity of bioelectrical impedance models in clinical populations. *Nutr Clin Pract* 2004;19:433–446.
27. Jaffrin MY, Morel H. Extracellular volume measurements using bioimpédance spectroscopy-Hanai method and wrist-ankle resistance at 50 kHz. *Med Biol Eng Comput* 2009;47:77–84.
28. Thomasset A. Propriétés bioélectriques des tissus. Mesure de l'impédance en clinique. *Lyon Med* 1962;207:107–118.
29. Hoffer EC, Meador CK, Simpson DC. A relationship between whole body impedance and total body water volume. *Ann N Y Acad Sci* 1970;170:452–461.
30. Sheltinga MR, Helton WS, Rounds J, et al. Impedance electrodes positioned on proximal portions of limbs quantifies fluid compartments in dogs. *J Appl Physiol* 1991;5:2039–2044.
31. Free Patents Online. Pet body fat measuring tool: United States patent application 20090076408. Available at: [www.freepatentsonline.com/20090076408.html](http://www.freepatentsonline.com/20090076408.html). Accessed May 7, 2014.
32. German AJ, Holden SL, Morris PJ, et al. Comparison of a bioimpedance monitor with dual-energy x-ray absorptiometry for noninvasive estimation of percentage body fat in dogs. *Am J Vet Res* 2010;71:393–398.
33. Jaffrin MY, Morel H. Body fluid volumes measurements by impedance: a review of bioimpedance spectroscopy (BIS) and bioimpedance analysis (BIA) methods. *Med Eng Phys* 2008;30:1257–1269.
34. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1:307–310.
35. Stone R, Berghoff N, Steiner JM, et al. Use of a bioelectric impedance device in obese and lean healthy dogs to estimate body fat percentage. *Vet Ther* 2009;10:59–70.
36. O'Brien C, Baker-Fulco CJ, Young AJ, et al. Bioimpedance assessment of hypohydration. *Med Sci Sports Exerc* 1999;31:1466–1471.
37. Kushner RF, Gudivaka R, Schoeller DA. Clinical characteristics influencing bioelectrical impedance analysis measurements. *Am J Clin Nutr* 1996;64:423S–427S.
38. Scharfetter H, Monif M, László Z, et al. Effect of postural changes on the reliability of volume estimations from bioimpedance spectroscopy data. *Kidney Int* 1997;51:1078–1087.
39. Ward LC. Segmental bioelectrical impedance analysis: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012;15:424–429.

## **IV. Application des équations prédictives obtenues en BIA monofréquence à 50 kHz et validées chez le chien Beagle, à d'autres races de chien (article 2)**

### **1. Contexte de la recherche**

L'utilisation de la BIA pour la détermination de la composition corporelle est validée chez le chien de race Beagle, en comparaison avec la technique de dilution au D<sub>2</sub>O. Le matériel portable permet la prise de mesures sur le terrain et est possible sur un animal vigile sans induire de stress notable.

Connaissant la sensibilité de la méthode chez l'homme à la population étudiée, et la disparité des morphologies et des formats chez le chien, il est indispensable de vérifier si les équations prédictives de la composition corporelle développée chez le beagle sont applicables à d'autres races.

Pour cela, il a été décidé de vérifier la fiabilité de la technique et des équations prédictives de la composition corporelle sur d'autres races que le beagle. La procédure utilisée a été rigoureusement la même que pour l'expérience décrite précédemment chez le beagle. Cet essai va également permettre de vérifier que la contrainte des mesures est supportable pour un chien de propriétaire, dans des conditions de terrain.

## **2. Article soumis à la publication le 13 janvier 2015 (BMC Research Notes)**

**Evaluation of total body water in canine breeds by single-frequency bioelectrical impedance analysis method: specific equations are needed for accuracy.**

Laurence Yaguiyan-Colliard<sup>1</sup>, DVM, Caroline Daumas<sup>2</sup>, DVM, Patrick Nguyen<sup>2</sup>, DVM, PhD, Dominique Grandjean<sup>1</sup>, DVM, PhD, Philippe Cardot<sup>3</sup>, DVM, PhD, Nathalie Priymenko<sup>4</sup>, DVM, PhD, Françoise Roux<sup>5</sup>, DVM, PhD

<sup>1</sup>Université Paris-Est, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Breeding and Sport Medicine Unit, 7 avenue du Général de Gaulle, Maisons-Alfort, F-94704, France

École Nationale Vétérinaire de Nantes (ONIRIS), <sup>2</sup>Nutrition and Endocrinology Unit, <sup>5</sup>Intensive Care Medicine Unit, Atlanpole La Chantrerie, route de Gachet, CS 40706, 44307 Nantes Cedex 3, France

<sup>3</sup>Université Pierre et Marie Curie, UMRS-1158, Experimental and Clinical Respiratory Neurophysiology Unit, Faculté de Médecine Pierre and Marie Curie, 91 Boulevard de l'Hôpital, 75634 Paris cedex 13

<sup>4</sup>École Nationale Vétérinaire UMR1331 Toxalim INRA/INP/UPS-ENVT, BP 87614, F-31076 Toulouse cedex 3, France

This manuscript represents a part of the requirement for a PhD degree that will be presented by Dr. Yaguiyan-Colliard to the doctoral school ED 394 Physiology, Physiopathology, and Therapeutics Department, Pierre and Marie Curie University.

Address correspondence to Laurence Yaguiyan-Colliard at [nutrition@colliard.fr](mailto:nutrition@colliard.fr)

Caroline Daumas: [daumascaroline@yahoo.fr](mailto:daumascaroline@yahoo.fr); Patrick Nguyen: [patrick.nguyen@oniris-nantes.fr](mailto:patrick.nguyen@oniris-nantes.fr); Dominique Grandjean: [dgrandjean@vet-alfort.fr](mailto:dgrandjean@vet-alfort.fr); Philippe Cardot : [philippe.cardot@upmc.fr](mailto:philippe.cardot@upmc.fr); Nathalie Priymenko : [n.priymenko@envt.fr](mailto:n.priymenko@envt.fr); Françoise Roux : [francoise.roux@oniris-nantes.fr](mailto:francoise.roux@oniris-nantes.fr)

## **ABSTRACT**

**Background:** Equations based on single frequency bioelectrical impedance analysis at 50 kHz for determination of total body water content (TBW) have been previously validated in healthy non-sedated beagle dogs. We investigated whether these equations are predictive of TBW in various canine breeds by comparing the results of these equations with TBW values evaluated directly by deuterium oxide (D<sub>2</sub>O) dilution.

**Methods:** TBW of 13 healthy adult pet dogs of various breeds was determined directly using D<sub>2</sub>O dilution and indirectly using previous equations based on values obtained with a portable bioelectric impedance device. Paired Student's t-tests were used to compare TBW obtained by single frequency bioelectrical impedance analysis and D<sub>2</sub>O dilution. A p-value of <0.05 was considered statistically significant for all analyses.

**Results:** Significant differences were observed between TBW determined by the reference method and the values obtained with both predictive equations.

**Conclusions:** The proposed equations including single frequency bioelectrical impedance analysis parameters validated at 50 kHz in healthy adult beagles need to be modified including morphological parameters such as body size and shape in a first approach. As in humans, morphological-specific equations have to be developed and validated.

## **KEYWORDS**

Dogs, Bioimpedance analysis, Deuterium dilution, Total body water, Body composition

## **Introduction**

Determination of total body water content (TBW) and body composition analysis are essential for meaningful medical follow-up of individuals [1] in physiological (e.g., growth, aging, and sport) as well as pathological (e.g., obesity, dialysis, and disability) states.

Bioelectrical impedance analysis (BIA) is often presented as an alternative to dilution techniques and to dual X-ray absorptiometry for the evaluation of TBW and body composition. It is a quick non-invasive technique that requires inexpensive equipment and a low-intensity electrical current, which is painless and undetectable by the subject. BIA has

been validated and routinely used in healthy as well as sick people [2-4]. This technique has also been validated with various types of equipment in several species including dogs [5-8], which has made it possible to derive linear regression equations for TBW evaluation. Nevertheless, development of specific equations in humans based on sex, age, ethnic group, and physical activity has been necessary [9]. No similar data for dogs have been published.

Because BIA has potential as an easy technique for assessment of body composition in veterinary practice, we aimed to verify whether the protocol and equations validated in adult non-anesthetized beagle dogs for single-frequency (SF-BIA) at 50 kHz [8] were applicable for the prediction of TBW in non-anesthetized dogs of various breeds.

## **Methods**

**Subjects:** Thirteen adult dogs of various breeds (3 middle-sized crossbred dogs, 2 Australian shepherd dogs, 2 Siberian huskies, 2 golden retrievers, 1 miniature schnauzer, 1 Yorkshire terrier, 1 Belgian shepherd dog, and 1 English bulldog) owned and voluntarily provided by veterinary students were used in the study. The dogs were  $4.3 \pm 2.9$  y (mean  $\pm$  SD) in age and weighed  $20.97 \pm 8.09$  kg (mean  $\pm$  SD). The mean body condition score (BCS) was 5.3/9 with a range of 5/9 to 7/9. The experimental protocols adhered to European Union guidelines and were approved by the Institute of Animal Clinical Research of Alfort.

**Deuterium dilution technique:** Food and water were restricted from 2 h before to 4 h after injection of the tracer. TBW was measured using the isotopic dilution of deuterium ( $D_2O$ ). On the day of the measurement, 12 h food deprived dogs were injected subcutaneously in the dorsal cervical region with  $D_2O^a$  (99.9%  $H/H^2$ ; 500 mg/kg body weight [W]) prepared with physiological saline (9 g NaCl/L). Syringes were weighed before and after administration of  $D_2O$  to determine the exact dose administered, with an accuracy of 0.1 g. Blood samples (5 mL) were collected in EDTA tubes from the jugular vein before and 4 h after injection of the tracer [10]. Plasma was separated by centrifugation at  $2000 \times g$  for 10 min, and stored at 20°C in sealed vials until analysis. Plasma  $D_2O$  was assayed in duplicate using Fourier transform infrared spectroscopy, as validated and described previously by Ferrier et al. [11].



Blood testing: Blood samples (2 mL) were collected in heparin tubes from the jugular vein before injection of the tracer for determination of hematocrit and blood glucose, total protein, albumin, sodium, potassium, and chloride levels.

Body measurements: Following injection of the tracer, the animals were weighed and measured. BCS for each dog was evaluated by the same trained veterinarian. Body length (L; from the external occipital protuberance to the base of the tail) was determined using a flexible tape. Thorax (rib-cage) circumference (RC; at the xyphoid process) and abdominal circumference (AC; at the umbilicus) were measured using a self-rewind tape<sup>b</sup> when the animal was in full expiration. Scapula height (H) was measured from the ground to the dorsal border of the scapula with a portable stadiometer<sup>c</sup>. All measurements were recorded in centimeters ( $\pm 1/10$ ) and weights in kilograms ( $\pm 1/100$ ).

SF- BIA: The animal was placed in a non-electrically conductive harness and then connected to the equipment as previously described by Yaguiyan-Colliard *et al.* [8]. The dog did not have to be restrained by an operator. The structure was placed on an electrically insulating mat so the animal did not contact any electrically conductive object.

Each animal was subjected to three sequential measurements of impedance with the bioelectrical impedance device<sup>d</sup> with a 77  $\mu$ A current and 50 kHz frequency. The dogs were restrained in the harness for about 5 min for the procedure. Sequential measurements also enabled investigation of the repeatability of the measurements. Data were transmitted directly from the analyzer to a computer and stored in a spreadsheet format file<sup>e</sup>.

Statistical analysis: Repeatability of measurements refers to the variation in repeat measurements made on the same subject under identical conditions. Variability in measurements made on the same subject can then be ascribed only to errors related to the measurement process itself. The repeatability of R and X measurements in each of the 13 dogs in the study was evaluated by the coefficient of variation (CV) as 100 times the ratio between the standard deviation (SD) and the mean of the R and X measurements, respectively.

The two predictive equations for TBW (1) and (2) were previously obtained by linear regression and validated in adult beagle dogs [8].

$$(1) \text{ TBW}_1 = -0.019(L^2/R) + -0.199(RC + PA) + 0.996W + 0.081H + 12.31$$

$$(2) \text{ TBW}_2 = 0.048(L^2/R) + -0.144(RC + PA) + 0.777W + 0.066H + 0.031X + 7.47$$

The TBW values computed using impedance measurements ( $\text{TBW}_i$ ) with the two equations and the TBW value measured directly by isotopic dilution ( $\text{TBW}_d$ ) were calculated. We used paired Student's t-tests to compare TBW obtained by SF-BIA and dilution (reference method). A p-value of  $<0.05$  was considered statistically significant for all analyses.

## Results

The owners' dogs remained relatively quiet in the restraining device without operator interference and tolerated the electrodes for the duration of the measurements.

Blood test results were found to be within normal ranges in all the dogs (data not shown).

The physical characteristics of the dogs and values obtained (Table 1) were used to calculate the TBW by using the previously validated equations (1) and (2).

Dogs	Breed	Sex	Age (y)	W (kg)	L (cm)	RC (cm)	AC (cm)	H (cm)
1	Mixed breed	M	7.00	32.50	90	76.6	55	64.4
2	Australian shepherd	MN	3.75	18.95	69.2	63.3	50.3	56.6
3	Australian shepherd	M	3.00	28.30	73.8	70.8	55.8	52.3
4	Siberian husky	FN	1.00	17.10	70.3	62.6	46.3	52.5
5	Miniature schnauzer	M	1.30	6.95	40.2	45.5	36.4	36.2
6	Mixed breed	MN	2.00	21.50	64.8	66.2	53.5	50.7
7	Golden retriever	M	6.50	27.80	76.1	73.3	56.6	54.7
8	Yorkshire terrier	M	10.90	5.15	43.7	40.2	34.1	26.1
9	Golden retriever	MN	4.70	27.30	79.6	71.8	58	58.8
10	Siberian husky	M	2.70	19.50	80.3	62.2	45.9	58.6
11	Mixed breed	FN	4.10	17.65	61.7	62	49.3	48.7
12	Belgian shepherd dog	FN	2.20	25.60	75.6	70.5	51.9	60.3
13	English bulldog	FN	7.20	24.25	58	65.9	56.4	35.9
			<b>Mean</b>	<b>4.33</b>	<b>20.97</b>			
			<b>SD</b>	<b>2.86</b>	<b>8.09</b>			

**Table 1:** Parameters of the 13 dogs. M: male, MN: neutered male; F: female, FN: neutered female

The median CV was 2.90% (range, 0.27–9.54%) for R and 2.38% (range, 0.05–10.56%) for X (Table 2).

Applying the two equations to the group of dogs demonstrated an overestimation of TBW compared with data obtained by isotopic dilution. The mean difference was  $1.96 \pm 2.04$  L (Diff<sub>1</sub>) for the first equation and  $3.31 \pm 5.06$  L (Diff<sub>2</sub>) for the second equation (Table 2). This corresponds to differences of 14.4% and 22.2% between computed TBW<sub>1</sub> and TBW<sub>2</sub>, respectively, and TBW<sub>d</sub>. Student's t tests were applied to the values obtained by the two equations. The values obtained by dilution were significantly different from those obtained using SF-BIA ( $p < 0.05$ ) (Table 2).

Dogs	R (Ω)	SD <sub>R</sub> (Ω)	CV <sub>R</sub>	X (Ω)	SD <sub>X</sub> (Ω)	CV <sub>X</sub>	TBW <sub>d</sub> (L)	TBW <sub>1</sub> (L)	Diff <sub>1</sub> (L)	TBW <sub>2</sub> (L)	Diff <sub>2</sub> (L)
1	97.87	0.30	0.30	22.70	0.24	1.08	19.46	22.14	2.68	22.65	3.19
2	188.42	1.48	0.77	37.65	0.28	0.73	11.41	12.68	1.27	11.91	0.50
3	127.78	4.00	3.14	32.95	3.48	10.56	12.60	18.73	6.13	17.70	5.10
4	164.83	12.46	7.56	59.52	0.03	0.05	6.35	11.35	5.00	11.77	5.42
5	108.70	0.29	0.27	27.75	0.22	0.79	4.45	5.58	1.13	4.99	0.53
6	84.68	0.99	1.17	21.12	0.17	0.80	13.11	13.07	-0.04	13.27	0.16
7	23.43	2.24	9.54	298.51	5.52	1.85	15.90	13.88	-2.02	35.04	19.14
8	135.00	2.75	2.04	27.86	1.13	4.05	3.01	4.50	1.49	3.99	0.98
9	100.13	1.64	1.64	36.04	0.56	1.56	15.78	17.23	1.45	17.98	2.20
10	148.38	1.21	0.81	33.49	0.29	0.86	12.10	14.14	2.04	14.00	1.89
11	142.84	4.44	3.11	33.06	0.53	1.60	8.51	11.18	2.67	10.63	2.12
12	117.06	5.83	4.98	27.30	0.72	2.64	15.01	17.41	2.39	16.86	1.84
13	104.77	2.44	2.33	17.77	0.78	7.38	13.15	14.42	1.27	13.11	-0.04
		Mean	2.90		Mean	2.38		Mean	1.96	Mean	3.31
								SD	2.04	SD	5.06

**Table 2:** Bioimpedance parameters and TBW values obtained in the study dogs with the two methods. Mean and SD of R and X as well as TBW determined directly by D<sub>2</sub>O dilution (TBW<sub>d</sub>) and indirectly with equations (1) (TBW<sub>1</sub>) and (2) (TBW<sub>2</sub>) with values

obtained using a portable bioelectric impedance device (resistance [R] and reactance [X]) and morphological parameters.  $\text{Diff}_1$  and  $\text{Diff}_2$ : differences between the  $\text{TBW}_d$  value and the TBW values computed with equations (1) and (2), respectively.

## Discussion

In this study, SF BIA at 50 kHz was applied in non-laboratory healthy adult dogs of various breeds. The BIA system could be applied in non-sedated dogs without generating unnecessary stress in the animals; however, TBW values obtained with predictive equations based on BIA and morphological parameters were significantly different from those obtained with  $\text{D}_2\text{O}$  dilution.

A simple system was developed in the previous study for restraint for SF BIA measurements in beagles [8]. This system efficiently maintained the study dogs of various breeds standing on four legs in a physiological position, without any discomfort, for the few seconds the measurements required. This is an important point because the envisaged future benefit of this study is the use of BIA in field conditions.

In our previous study on 26 beagle dogs with the same protocol and device [8], the mean CVs were slightly lower than those of the present study (1.6% vs. 2.9% for R and 2.2% vs. 2.38% for X). However coefficients of variation for R and X found in this study were low, which illustrates that the precision of the BIA method was good with the study dogs in spite of the variety of breeds and coats, and a lower compliancy than laboratory dogs.

BIA may be affected by many variables such as hydration status, consumption of food and water, skin and air temperature, recent physical activity, conductance of the examination table, and posture, in addition to electrode positioning and instrumentation [12-14]. This study was designed to standardize and control as many of these variables as possible. No alterations were found in blood parameters in any of the dogs that could have altered the conduction of electric current in the body (data not shown).

However, the diversity of shapes and coats of canine breeds might explain the inaccuracy of predictive equations for TBW validated in beagle dogs observed in this study. One dog, a Braque Français cross (dog no. 6; Tables 1 and 2), showed similar results for TBW between the two methods. This dog, although larger, had the same shape and coat as a

beagle dog. Body condition might also have impacted the results as the dogs used in this study had an average normal body condition while the equations were validated in overweight beagle dogs.

This study showed that in dogs, as in humans, it is necessary to define predictive equations for TBW based on BIA parameters according to various morphological parameters such as body size and body condition. Further study is needed to determine coefficients for the equations in dogs according to variables such as breed, sex, condition, activity level, and age.

### **LIST OF ABBREVIATIONS**

AC: abdominal circumference

BCS: body condition score

BIA: bioimpedance analysis

CV: coefficient of variation

D2O: deuterium

H: scapula height

L: body length

R: resistance

RC: rib-cage circumference

SD: standard deviation

SF-BIA: single-frequency bioelectrical impedance analysis

TBW: total body water

W: body weight

X: reactance

Z: impedance

## **COMPETING INTERESTS**

The authors declare that they have no competing interests.

## **AUTHORS' CONTRIBUTIONS**

LYC and FR instigated the study and participated in the study design; acquisition, analysis, and interpretation of data; and drafting of the manuscript. CD participated in the study design and acquisition, analysis, and interpretation of data. PN participated in analysis and interpretation of data. DG participated in drafting of the manuscript. PC and NP participated in the study design and drafting of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

We would like to express our gratitude to IDEXX France for free supply of biochemical analysis plates.

## **ENDNOTES**

- a. Eurisotop, Gif-sur-Yvette, France
- b. Holtex +, Aix En Provence, France
- c. Tanita France SA, Neuilly Sur Seine, France
- d. Z-MétriX, BioparHom, Bourget du Lac, France
- e. Microsoft Office Excel, Microsoft France, Issy Les Moulineaux, France

## REFERENCES

- [1] Thibault R, Pichard C: The evaluation of body composition: a useful tool for clinical practice. *Ann Nutr Metab* 2012, 60:6-16.
- [2] Jaffrin MY: Body composition determination by bioimpedance: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009, 12(5):482-486.
- [3] Casey AF: Measuring body composition in individuals with intellectual disability. *J Obes* 2013, Article ID 628428, online access: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/628428>
- [4] Böhm A, Heitmann BL: The use of bioelectrical impedance analysis for body composition in epidemiological studies. *Eur J Clin Nutr* 2013, 67:S79-S85.
- [5] Sheltinga MR, Helton WS, Rounds J, Jacobs DO, Wilmore DW: Impedance electrodes positioned on proximal portions of limbs quantify fluid compartments in dogs. *J Appl Physiol* 1991, 5:2039-2044.
- [6] Burkholder WJ: Body composition of dogs determined by carcass composition analysis, deuterium oxide dilution, subjective and objective morphometry, and bioelectrical impedance. PhD thesis. Blacksburg: Virginia Polytechnic Institute and State University; 1994:357.
- [7] Free Patents Online web site. Pet body fat measuring tool: United States patent application 20090076408. Available at: <http://www.freepatentsonline.com/20090076408.pdf>. Accessed December 2, 2014.
- [8] Yaguiyan-Colliard L, Daumas C, Bousbiat S, Jaffrin M, Cardot P, Grandjean D, Priymenko N, Nguyen P, Roux F. Indirect assessment of total body water in adult beagle dogs by single-frequency bioelectrical impedance analysis (SF-BIA). *Am J Vet Res* 2015, in press.
- [9] Ward LC. Segmental bioelectrical impedance analysis: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012, 15:424-429.
- [10] Jeusette I, Daminet S, Nguyen P, Shibata H, Saito M, Honjoh T, Istasse L, Diez M. Effect of ovariectomy and ad libitum feeding on body composition, thyroid status, ghrelin and leptin plasma concentrations in female dogs. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2006, 90:12-18.

[11] Ferrier L, Robert P, Dumon H, Martin L, Nguyen P. Evaluation of body composition in dogs by isotopic dilution using a low-cost technique, Fourier-transform infrared spectroscopy. *J Nutr* 2002, 132:1725S-1727S.

[12] Gudivaka R, Schoeller DA, Kushner RF, Bolt MJG. Single- and multifrequency models for bioelectrical impedance analysis of body water compartments. *J Appl Physiol* 1999, 87(3):1087-1096.

[13] O'Brien C, Baker-Fulco CJ, Young AJ, Sawka MN. Bioimpedance assessment of hypohydration. *Med Sci Sports Exerc* 1999, 31:1466-1471.

[14] Scharfetter H, Monif M, László Z, Lambauer T, Hutten H, Hinghofer-Szalkay H. Effect of postural changes on the reliability of volume estimations from bioimpedance spectroscopy data. *Kidney Int* 1997, 51:1078-1087.



## V. Conclusion générale

La connaissance de la composition corporelle est primordiale dans le suivi d'un patient, que ce soit dans un contexte physiologique (croissance, activité physique, vieillissement) ou dans une situation pathologique. Il est en effet admis que toute perte de masse maigre est associée à une morbidité et une mortalité augmentées chez l'homme. La détermination de la composition corporelle fait donc partie des outils d'évaluation du statut nutritionnel mais offre également la possibilité d'objectiver toute intervention nutritionnelle et/ou thérapeutique.

Les méthodes les plus utilisées actuellement en médecine humaine, pour la détermination de la composition corporelle sont : la dilution isotopique (principalement à l'eau deutérée ; méthode indirecte), l'absorption biphotonique à rayons X (DXA ; méthode directe) ou la bioimpédancemétrie (méthode indirecte). Chez l'animal, si les deux premières méthodes sont les plus utilisées, elles présentent l'inconvénient d'être coûteuses et non utilisables en pratique courante. De plus, la DXA exige d'anesthésier l'animal, ce qui limite son utilisation à des patients en bonne santé. Il est donc intéressant de développer une méthode simple, non invasive et peu coûteuse d'évaluation de la composition corporelle afin de connaître et de suivre précisément l'état nutritionnel dans des conditions de pratique clinique. La bioimpédancemétrie pourrait répondre à ces besoins.

Chez le chien, la bioimpédancemétrie a été validée par rapport au DXA ou à la méthode de dilution isotopique à l'eau deutérée. Cependant, les études publiées montrent parfois des résultats inconstants suivant la méthode et le matériel utilisés. Si l'on compare aux études chez l'homme, où la bioimpédancemétrie est utilisée au quotidien, elles montrent que cette technique est fiable, mais que les données et leur interprétation restent très sensibles aux populations étudiées, au protocole de prise de mesures ainsi qu'au matériel utilisé.

Le premier objectif de ce travail était de **développer et de standardiser un protocole** de mesures de la bioimpédance et des paramètres morphométriques chez le chien vigile à l'aide d'un matériel portable. Des protocoles de contention douce et de prise de mesures ont été mis au point et ont montré leur faisabilité et leur répétabilité sur le terrain, non seulement en conditions expérimentales chez des chiens de race beagle, mais également en conditions de pratique clinique avec des chiens de propriétaires. L'armature métallique utilisée pour

accrocher le harnais en maintenant le chien en position debout, est originale et unique. Cependant, une simple table de toilettage pourrait convenir, en prenant soin d'isoler électriquement le sol de la table et de faire en sorte que le chien ne puisse pas être en contact avec une partie métallique. Aucune répercussion sur la conduction électrique n'est attendue puisque les parties en contact avec le chien seront non conductrices. L'utilisation de pinces crocodiles, dont les dents ont été émoussées, est possible sans inconfort manifeste du chien. Pour utiliser les résultats de ce travail dans de futures expériences, il est indispensable de ne pas changer ces électrodes. Néanmoins, même si elles sont bien acceptées par le chien, on peut améliorer le système en imaginant des électrodes encore moins contraignantes en termes de positionnement, ce qui pourrait alors permettre leur utilisation chez une espèce plus sensible comme le chat. Des électrodes fixées sur un brassard avec une bande velcro permettraient la position fixe des électrodes et le brassard pourrait être placé sur le radius/cubitus et le tibia de l'animal sans aucun inconfort. Il ne faut cependant pas oublier que le changement du type d'électrodes demanderait de revalider la technique et les équations associées.

Le deuxième objectif de ce travail était de **valider des équations prédictives de l'eau corporelle totale** à partir des données d'impédance et de paramètres morphométriques, en comparaison avec la méthode de dilution à l'eau deutérée. C'est une méthode indirecte de calcul de la composition corporelle : en effet, la masse grasse ne contenant pas d'eau, l'eau totale ne se retrouve que dans les tissus maigres de l'organisme. En connaissant le taux d'hydratation moyen de la masse maigre, il est alors possible de calculer la quantité de masse maigre en connaissant la teneur en eau totale de l'organisme. Il a été montré ici que la valeur prédictive de l'eau corporelle totale, calculée grâce aux deux équations développées, est hautement corrélée à la valeur obtenue par la méthode de dilution isotopique chez le chien de race Beagle. Les résultats sont très satisfaisants et comparables aux résultats obtenus en médecine humaine et en médecine vétérinaire.

Chez l'homme, les équations prédictives sont très spécifiques de la population étudiée : il est donc important de vérifier que les équations prédictives de la teneur en eau totale développées pour une race de chien, en l'occurrence le beagle, restent valable chez d'autres races ou formats de chien. Le dernier objectif de ce travail a donc été de **vérifier si les équations prédictives validées chez le chien de race beagle étaient prédictives de l'eau corporelle totale dans diverses races de chiens**. Comme il était prévisible, au vu des

différences déjà observées chez l'homme et des variations marquées de conformations dans l'espèce canine, ces équations définies chez le Beagle se sont avérées imprécises et ne peuvent donc pas être utilisées en l'état dans d'autres races. Ce premier point pourrait déjà expliquer les résultats inconstants publiés chez le chien. C'est ici la première étude qui montre qu'il est important de ne pas généraliser les résultats obtenus dans une race aux autres races de chien. Plusieurs raisons pourraient être à l'origine de ces résultats. Tout d'abord, le faible nombre de chiens utilisés dans les expériences. Sachant que chez l'homme, des équations sont développées selon l'âge, le sexe et l'ethnie, il convient d'affiner les équations en augmentant le nombre de sujets. Ensuite, la diversité du pelage, de la peau, des conformations osseuse et musculaire qui se retrouvent dans cette espèce, influence également les caractéristiques de la conduction électrique et donc les mesures de bioimpédance (résistance et réactance). Enfin, la technique de référence, la méthode de dilution isotopique au deutérium, utilisée depuis des décennies, applique un coefficient moyen d'hydratation pour calculer la teneur en eau totale à partir du dosage de deutérium. Ce coefficient d'hydratation n'a pas été réactualisé et surtout il a été défini à partir de chien de race beagle. Aucune étude n'existe sur la composition de la masse maigre selon les races de chiens. Il serait en effet étonnant que des différences phénotypiques aussi marquées ne soient pas accompagnées de différences physiologiques. Dans ce cas, ce ne serait pas la bioimpédance qui ne serait pas précise mais les calculs de la méthode de référence. Il convient alors de réfléchir sur le choix d'une méthode de référence pour la validation de la bioimpédance chez le chien.

Il semble cependant, malgré l'impossibilité de généraliser les équations prédictives obtenues chez le Beagle à l'ensemble de l'espèce canine, que cette technique mérite une attention particulière car elle reste non invasive, peu coûteuse, simple et rapide. Elle reste une technique prometteuse de la détermination de la composition corporelle chez le chien. Elle demande cependant de bien choisir la méthode de référence et de définir les objectifs de l'utilisation de cette technique.

## Bibliographie

- ACKMANN, JJ, SEITZ, MA. Methods of complex impedance measurements in biologic tissue. *Crit Rev Biomed Eng* 1984, n° 11(4), p. 281-311.
- ADAMS, VJ, EVANS, KM, SAMPSON, J, WOOD, JLN. Methods and mortality results of a health survey of purebred dogs in the UK. *J Small Anim Pract* 2010, n°51, p. 512–524.
- AL-HATIB, F. Patient-instrument connection errors in bioelectrical impedance measurement. *Physiol. Meas* 1998, n°19, p.285.
- ANDERSEN, TB, JØDAL, L, ARVESCHOUG, A, ESKILD-JENSEN, A, FRØKIÆR, J, BRØCHNER-MORTENSEN, J. Precision and within- and between-day variation of bioimpedance parameters in children aged 2-14 years. *Clin Nutr* 2011, n°30, p. 326-31.
- ANDROUTSOS, O, GERASIMIDIS, K, REILLY, JJ, EDWARDS, CA. Effect of food and drink on body composition measurements by two methods of bioimpedance. *Clin Nutr Suppl* 2008, n° 3(suppl 1), p. 127.
- ANTUNES, AA, RODRIGUES, APAP, GERAIX, J, SILVEIRA, LVA, PEREIRA, PCM, CARVAJHAES, ABL. Nutritional assessment of hospitalized HIV-infected patients by phase angle z-score measurement. *Nutr Hosp* 2012, n° 27(3), p. 771-774.
- ANTUNES, AA, VANNINI, FD, SILVIERA, LVA, CUADRADO MARTIN, L, BARRETTI, P, COSTA TEIXIERA CARAMORI, J. Influence of protein intake and muscle mass on survival in chronic dialysis patients. *Ren Fail* 2010, n° 32(9), p. 1055-1059.
- ASSELIN, MC, KRIEMLER, S, CHETTLE, DR, WEBBER, CE, BAR-OR, O, MCNEILL, FE. Hydration status assessed by multi-frequency bioimpedance analysis. *Appl Radiat Isot* 1998, n° 49 (5/6), p. 495-497.
- ARMSTRONG, PJ, LUND, EM. Changes in body composition and energy balance with aging. *Vet Clin Nutr* 1996, n° 3, p. 83–87.
- ARMSTRONG, LE, KENEFICK, RW, CASTELLANI, JW, RIEBE, D, KAVOURAS, SA, KUZNICKI, JT, MARESH, CM. Bioimpedance spectroscopy technique: intra-, extracellular, and total body water. *Med Sci Sports Exerc* 1997, n° 29, p. 1657-1663.
- ARNOULD, JPY. Indices of body condition and body composition in female Antarctic fur seals (*Arctucephalus gazella*). *Marine Mam Sci* 1995, n°11, p.301-313.

- BACKUS, RC, HAVEL, PJ, GINGERICH, RL, ROGER, QR. Relationship between serum leptin immunoreactivity and body fat mass as estimated by use of a novel gas-phase Fourier transform infrared spectroscopy deuterium dilution method in cats. *Am J Vet Res* 2000, n°61, p. 796-801.
- BARBOSA-SYLVA, MCG, BARROS, AJD, WANG, J, HEYMSFIELD, SB, PIERSON, Jr RN. Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. *Am J Clin Nutr* 2005, n° 82, p. 49-52.
- BATTISTINI, N, FACCHINI, F, BEDOGNI, G, SEVERI, S, FIORI, G, PETTERNER, D. The prediction of extracellular and total body water from bioelectric impedance in a non-Caucasian population from Central Asia. *Ann Hum Biol* 1995a, n° 22(4), p. 315-320.
- BATTISTINI, N, BRAMBILLA, P, VIRGILI, F, SIMONE, P, BEDOGNI, G, MORINI, P, CHIUMELLO, G. The prediction of total body water from body impedance in young obese subjects. *Int J Obes* 1992, n° 16, p. 207-12.
- BATTISTINI, N, VIRGILI, F, SEVERI, S, BRAMBILLA, P, MANZONI, P, BECCARIA, L, CHIUMELLO, G. Relative expansion of extracellular water in obese vs. normal children. *J Appl Physiol* 1995b, n° 79(1), p. 94-96.
- BAUMGARTNER, RN, CHUMLEA, WC, ROCHE, AF. Bioelectric impedance phase angle and body composition. *Am J Clin Nutr* 1988, n° 48, p. 16-23.
- BEDOGNI, G, POLITO, C, SEVERI, S, STRANO, CG, MANZIERI, AM, ALESSIO, M, IOVENE, A, BATTISTINI, N. Altered body water distribution in subjects with juvenile rheumatoid arthritis and its effects on the measurement of water compartments from bioelectric impedance. *Eur J Clin Nutr* 1996, n° 50, p. 335-339.
- BEDOGNI, G, SEVERI, S, MANZIERI, AM, TRUNFIO, O, POLI, M, BATTISTINI, N. Use of bioelectric impedance analysis (BIA) in children with alterations of body water distribution. *Appl Radiat Isot* 1998, n° 49(5/6), p. 619-20.
- BERG, HE, TEDNER, B, TESCH, PA. Changes in lower limb muscle cross-sectional area and tissue fluid volume after transition from standing to supine. *Acta physiol Scand* 1993, n°148(4), p.379-385.
- BERLIT, S, TUSCHY, B, STOJAKOWITS, M, WEISS, LE, WELING, H, SÜTTERLIN, M, KEHL, S. Bioelectrical impedance analysis in pregnancy: reference ranges. *In Vivo* 2013, n° 27(6), p. 851-854.

- BOGÓNEZ-FRANCO, P, NESCOLARDE, L, BRAGOS, R, ROSELL-FERRER, J, YANDIOLA, I. Measurement errors in multifrequency bioelectrical impedance analyzers with and without impedance electrode mismatch. *Physiol Meas* 2009, n° 30, p. 573–587.
- BÖHM, A, HEITMANN, BL. The use of bioelectrical impedance analysis for body composition in epidemiological studies. *Eur J Clin Nutr* 2013, n° 67, p. S79-S85.
- BOOLES, D, POORE, DW, LEGRAND-DEFRETIN, V, BURGER, IH. Body composition of male and female Labrador retriever puppies at 20 wk of age. *J Nutr* 1994, n°124(12 Suppl), p. 624S-2625S.
- BOSCAN, P, PYPENDOP, BH, SIAO KT, FRANCEY, T, DOWERS, K, COWGILL, L, ILKIW, JE. Fluid balance, glomerular filtration rate, and urine output in dogs anesthetized for an orthopedic surgical procedure. *Am J Vet Res*, 2010, n° 71(5), p. 501-507.
- BOWEN, WD, BONESS, DJ, IVERSON, SJ. Estimation of total body water in harbor seals: how useful is bioelectrical impedance analysis? *Marine Mam Sci* 1998, n° 14(4), 765-777.
- BRENTEN, T, MORRIS, PJ, SALT, C, RAILA, J, KOHN, B, BRUNNBERG, L, SCHWEIGERT, FJ, ZENTEK, J. Energy intake, growth rate and body composition of young Labrador Retrievers and Miniature Schnauzers fed different dietary levels of vitamin A. *Br J Nutr* 2014, n° 111(12), p. 2104-2111.
- BROŽEK, J, GRANDE, F, ANDERSON, JT, KEYS, A. Densitometric analysis of body composition: revision of some quantitative assumptions. *Ann NY Acad Sci* 1963, n°110, p. 113–140.
- BUENDÍA, R, BOGÓNEZ-FRANCO, P, NESCOLARDE, L, SEOANE, F. Influence of electrode mismatch on Cole parameter estimation from total right side electrical bioimpedance spectroscopy measurements. *Med Eng Phys* 2012, n° 34, p. 1024–1028.
- BURKHOLDER, WJ, THATCHER, CD. Validation of predictive equations for use of deuterium oxide dilution to determine body composition of dogs. *Am J Vet Res* 1998, n° 59(8), p. 927-937.
- CARPENTER, CI, YAN, S, CHEN, S, HONG, K, ARECHIGA, A, KIM, WS, DENG, M, LI Z, HEBER D. Body fat and body-mass index among multiethnic sample of college-age men and women. *J Obes* 2013, Vol. 2013.
- CATON, JR, MOLÉ, PA, ADAMS, WC, HEUSTIS, DS. Body composition analysis by bioelectrical impedance: effect of skin temperature. *Med Sci Sports Exerc* 1988, n° 20(5), p. 489-491.

- CENTER, SA, WARNER, KL, RANDOLPH, JF, WAKSHLAG, JJ, SUNVOLD, GD. Resting energy expenditure per lean body mass determined by indirect calorimetry and bioelectrical impedance analysis in cats. *J Vet Intern Med* 2011, n° 25(6), p.1341-1350.
- CHAPMAN, ME, HU, L, PLATO, CF, KOHAN, DE. Bioimpedance spectroscopy for the estimation of body fluid volumes in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010, n° 299(1), p. F280–F283.
- CHEEK DB. Human growth: body composition, cell growth, energy, and intelligence. Philadelphia, PA, Lean and Febiger, 1968, p.135-149.
- CHROUSOS, GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *New Engl J Med* 1995, n° 332, p. 1351-1362.
- COLE, KS. Electric impedance of suspensions of arbacia eggs. *J General Physiol* 1928, n° 12(1), p. 37-54.
- COMBE, C, CHAUVEAU, P, LAVILLE, M, FOUQUE , D, AZAR, R, CANO,N, CANAUD,B, ROTH, H, LEVERVE, X, APARICIO, M. Influence of nutritional factors and hemodialysis adequacy on the survival of 1,610 French patients. *Am J Kidney Dis* 2001, n° 37, p. S81-S88.
- CORNISH, BH, WARD, LC, THOMAS, BJ. Measurement of extracellular and total body water of rats using multiple frequency bioelectrical impedance analysis. *Nutr Res* 1992, n° 12, p. 657-666.
- CORNISH, BH, JACOBS, A, THOMAS, BJ, WARD, LC. Optimizing electrode sites for segmental bioimpedance measurements. *Physiol. Meas* 1999, n° 20(3), p.241.
- CORNISH, BH, THOMAS, BJ, WARD, LC. Effect of temperature and sweating on bioimpedance measurements. *Appl Radiat Isot* 1998, n° 49(5/6), p.475-476.
- CORNISH, BH, WARD, LC, THOMAS, BJ, JEBB, SA, ELIA, M. Evaluation of multiple frequency bioelectrical impedance and Cole-Cole analysis for the assessment of body water volumes in healthy humans. *Eur J Clin Nutr* 1996, n° 50(3), p. 159-164.
- COX, MK, HEINTZ, R, HARTMAN, K. Measurements of resistance and reactance in fish with the use of bioelectrical impedance analysis: sources of error. *Fish Bull* 2011, n° 109(1), p. 34-47.
- DAVIES, PSW, PREECE, MA, HICKS, CJ, HALLIDAY, D. The prediction of total body water using bioelectrical impedance in children and adolescents. *Ann Hum Biol* 1988, n° 15, p.237-240.

- DEURENBERG, P. Limitations of the bioelectrical impedance method for the assessment of body fat in severe obesity. *Am J Clin Nutr*, 1996, n° 64(suppl), p.449S-452S.
- DEURENBERG, P; DEURENBERG-YAP, M. Differences in body-composition assumptions across ethnic groups: practical consequences. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001, n° 4(5), p. 377-383.
- DEURENBERG, P, SCHOUTEN, FJ. Loss of total body water and extracellular water assessed by multifrequency impedance. *Eur J Clin Nutr* 1992, n° 46(4), p. 247-255.
- DEURENBERG, P, DEURENBERG-YAP, M, SCHOUTEN, FJM. Validity of total and segmental impedance measurements for prediction of body composition across ethnic population groups. *Eur J Clin Nutr* 2002, n° 56, p. 214-230.
- DEURENBERG, P, WESTSTRATE, JA, PAYMANS, I, VAN DER KOOY, K. Factors affecting bioelectrical impedance measurements in humans. *Eur J Clin Nutr* 1988, n° 42(12), p. 1017-1022.
- DEURENBERG, P, VAN DER KOY, K, LEENEN, R, WESTRATE, JA, SEIDELL, JC. Sex and age specific prediction formulas for estimating body composition from bioelectric impedance: a cross validation study. *Int J Obes* 1991, n° 15, p. 17-25.
- DITTMAR, MK. Reliability and variability of bioimpedance measures in normal adults: Effects of age, gender, and body mass. *Am J Physiol Anthropol* 2003, n°122(4), p. 361-370.
- DITTMAR, MK. Comparison of three segmental multifrequency bioelectrical impedance techniques in healthy adults. *Ann Hum Biol* 2012, n° 39(6), p. 468-478.
- EISENMANN, JC, HEELAN, KA, WELK, GJ. Assessing body composition among 3-8-years-old children: anthropometry, BIA, and DXA. *Obes Res* 2004, n° 12(10), p. 1633-1640.
- ELLIOTT DA. Multifrequency bioelectrical impedance analysis in healthy cats and dogs. PhD thesis in Nutrition 2001, University of California, Davis, 234p.
- ELLIOTT, DA, BACKUS, RC, VAN LOAN, MD, ROGERS, QR. Evaluation of Multifrequency Bioelectrical Impedance Analysis for the Assessment of Extracellular and Total Body Water in Healthy Cats. *J Nutr* 2002, n°132(suppl), p. 1757S-1759S.
- ELLIS, KJ, WONG, WW. Human hydrometry: comparison of multifrequency bioelectrical impedance with 2H<sub>2</sub>O and bromide dilution. *J Appl Physiol* 1998, n°85, p. 1056-1062.



- ERDOĞAN, E, TUTAL, E, UYAR, ME, BAL, Z, DEMIRCI, B, SAYIN, B, SEZER, S. Reliability of bioelectrical impedance analysis in the evaluation of the nutritional status of hemodialysis patients- A comparison with Mini Nutritional Assessment. *Transplant P* 2013, n° 45, p. 3485-3488.
- FARLEY, SD, ROBBINS, CT. Development of two methods to estimate body composition of bears. *Can J Zool* 1994, n° 72, p. 220-226.
- FENECH, M, JAFFRIN, MY, MALMEN, U. Reversibility of artifacts of fluid volume measurements by bioimpedance caused by position changes during dialysis. *Int J Artif Organs* 2002, n° 25(3), p. 217-222.
- FERRIER, L, ROBERT, P, DUMON, H, MARTIN, L, NGUYEN, P. Evaluation of body composition in dogs by isotopic dilution using a low-cost technique, Fourier-transformed infrared spectroscopy. *J Nutr* 2002, n° 132, p. 1725S-1727S.
- FICK, LJ, FICK, GH, LI, Z, CAO E, BAO, B, HEFFELFINGER, D, PARKER, HG, OSTRANDER, EA, RIABOWOL, K. Telomere length correlates with life span of dog breeds. *Cell Rep* 2012, n° 2, p. 1530–1536.
- FIELDING, CL, MAGDESIAN, KG, Y DA, COWGILL LD, CARLSON GP. Use of multifrequency bioelectrical impedance analysis for estimation of total body water and extracellular and intracellular fluid volumes in horses. *Am J Vet Res*, 2004, n°65(3), p. 320-326.
- FIELDING, CL, MAGDESIAN, KG; CARLSON, G; RHODES, DM, RUBY, RE. Application of the sodium dilution principle to calculate extracellular fluid volume changes in horses during dehydration and rehydration. *Am J Vet Res* 2008, n° 69, p. 1506–1511.
- FIELDING, CL, MAGDESIAN, KG, CARLSON, GP, RUBY, RE, RHODES, DM. Estimation of Acute Fluid Shifts Using Bioelectrical Impedance Analysis in Horses. *J Vet Intern Med* 2007, n° 21, p. 176-183.
- FIELDING, CL, MAGDESIAN, KG, EDMAN, JE. Determination of body water compartments in neonatal foals by use of indicator dilution techniques and multifrequency bioelectrical impedance analysis. *Am J Vet Res* 2011, n° 72, p. 1390–1396.
- FORBES, RM, COOPER, AR, MITCHELL, HH. The composition of the adult human body as determined by chemical analysis. *J Biol Chem* 1953, n° 20(1), p. 359-366.

- FORRO, M, CIESLAR, S, ECKER, GL, WALZAK, A, HAHN, J, LINDINGER, MI. Total body water and ECFV measured using bioelectrical impedance analysis and indicator dilution in horses. *J Appl Physiol* 2000, n° 89, p. 663-671.
- FOSTER, KR, LUSAKI, HC. Whole-body impedance – What does it measure? *Am J Clin Nutr* 1996, n° 64(suppl), p. 388S-396S.
- GALES, R, RENOUF, D, WORTHY, GAJ. Use of bioelectrical impedance analysis to assess body composition of seals. *Marine Mam Sci* 1994, n° 10(1), p. 1-12.
- GEDDES, LA, BAKER, LE, MOORE, AG, COULTER, TW. Hazards in the use of low frequencies for the measurement of physiological events by impedance. *Med Biol Engineer* 1969, n° 7(3), p. 289-296.
- GENTON L, KARSEGARD VL, HANS D, PICHARD C. Comparison of fat-free mass (FFM) measured by three bioimpedance analysis (BIA) formula with Dual-Energy X-Ray absorptiometry (DXA) in obese subjects. *Clin Nutr Suppl* 2010, n° 5(2), p. 16.
- GERMAN, AJ, HOLDEN, SL, MORRIS, PJ, BIOURGE, V. Comparison of a bioimpédance monitor with dual-energy x-ray absorptiometry for noninvasive estimation of percentage body fat in dogs. *Am J Vet Res* 2010, n° 71, p. 393-398.
- GERMAN, AJ, HOLDEN, SL, MOXHAM, GL, HOLMES, KL, HACKETT, RM, RAWLINGS, JM. A simple reliable tool for owners to assess the body condition of their dog or cat. *J Nutr* 2006, n° 136, p. 2031S–2033S.
- GHEZZI F, FRANCHI M, BALESTERI D, LISCHETTI B, MELE MC, ALBERICO S, BOLIS P. Bioelectrical impedance analysis during pregnancy and neonatal birth weight. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001, n° 98(2), p. 171-176.
- GONÇALVES, VSS, FARIA, ER, FRANCESCHINI, SCC, PRIORE, SE. Predictive capacity of different bioelectrical impedance analysis devices, with and without protocol, in the evaluation of adolescents. *J Pediatr (Rio J)* 2013, n° 89(6), p. 567-574.
- GORAN, MI, KASKOUN, MC, CARPENTER, WH, POEHLMAN, ET, RAVUSSIN, E, FONTVIEILLE, AM. Estimating body composition of young children by using bioelectrical resistance. *J Appl Physiol* 1993, n° 75, p. 1776-1780.
- GRAY, DS, BRAY, GA, GEMAYEL, N, KAPLAN, K. Effect of obesity on bioelectrical impedance. *Am J Clin Nutr* 1989, n° 50(2), p. 255-260.
- GUALDI-RUSSO, E, TOSELLI, S. Influence of various factors on the measurement of multifrequency bioimpedance. *Homo* 2002, n° 53(1), p. 1–16.

- GUDIVAKA, R, SCHOELLER, DA, KUSHNER, RF, BOLT, MJG. Single- and multifrequency models for bioelectrical impedance analysis of body water compartments. *J Appl Physiol* 1999, n° 87(3), p. 1087-1096.
- HANNAN, WJ, COWEN, SJ, FEARSON, KCH, PLESTER, CE, FALCONER, JS, RICHARDSON, RA. Evaluation of multi-frequency bio-impedance analysis for the assessment of extracellular and total body water in surgical patients. *Clin Sci* 1994, n° 86, p. 479-485.
- HARPER EJ. Changing Perspectives on Aging and Energy Requirements: Aging, Body Weight and Body Composition in Humans, Dogs and Cats. *J Nutr* 1998, n° 128, p. 2627S-2631S.
- HARRISON, HE, DARROW, DC, YANNET, H. The total electrolyte content of animals and its probable relation to the distribution of water. *J Biol Chem* 1936, n° 113, p. 515–529.
- HEGARTY, RS, MCPHEE, MJ, ODDY, VH, THOMAS, BJ, WARD, LC. Prediction of the chemical composition of lamb carcasses from multi-frequency impedance data. *Br J Nutr* 1988, n° 79, p. 169-176.
- HEVESY, GV, JACOBSEN, CF. Rate of passage of water through capillary and cell walls. *Acta Physiol Scand* 1940, n° 1(1), p. 11-18.
- HEYDARI, ST, SEYED-MOHAMMAD-TAGHI AYATOLLAHI, NZ. Diagnostic value of bioelectrical impedance analysis versus body mass index for detection of obesity among students. *Asian J Sports Med* 2011, n° 2(2), p. 68.
- HEYMSFIELD, SB, MATTHEWS, D. Body Composition: Research and Clinical Advances—1993 A.S.P.E.N. Research Workshop. *J Parenter Enteral Nutr* 1994, n° 18(2), p. 91-103.
- HOFFER, EC, MEADOR, CK, SIMPSON, DC. A relationship between whole body impedance and total body water volume. *Ann NY Acad Sci* 1970, n° 170(2), p. 452–461.
- HOUTKOUPEL, LB, LOHOMAN, TG, GOING, SB, HALL, MC. Validity of bioelectrical impedance for body composition assessment in children. *J Appl Physiol* 1989, n° 66, p. 814-821.
- HU, L, MASLANIK, T, ZEREBECKYJ, M, PLATO, CF. Evaluation of bioimpedance spectroscopy for the measurement of body fluid compartment volumes in rats. *J Pharmacol Toxicol Meth* 2012, n° 65, p. 75–82.

- HUTCHINSON, D, SUTHERLAND-SMITH, J, WATSON, AL, FREEMAN, LM.  
Assessment of methods of evaluating sarcopenia in old dogs. *Am J Vet Res* 2012, n° 73, p. 1794–1800.
- JANSSEN, YJH, DEURENBERG, P, ROELFSEMA, F. Using dilution techniques and multifrequency bioelectrical impedance to assess both total body water and extracellular water at baseline during recombinant human growth hormone (GH) treatment in GH-deficient adults. *J Clin Endocr Metab* 1997, n° 82(10), p. 3349-3355.
- JENNINGS, G, BLUCK, L, WRIGHT, A, ELIA, M. The use of infrared spectrophotometry for measuring body water spaces. *Clin Chem* 1999, n° 45, p. 1077-1081.
- JOHANSEN, KL, KAYSEN, GA, YOUNG, BS, HUNG, AM, DA SILVA, M, CHERTOW, GM. Longitudinal study of nutritional status, body composition, and physical function in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 2003, n° 77, p. 842–846.
- KAFRI, MW, POTTER, JE, MYINT, PK. Multi-frequency bioelectrical impedance analysis for assessment fat mass and fat-free mass in stroke or transient ischaemic attack patients. *Eur J Clin Nutr* 2014, n° 68, p. 677-682.
- KAGAWA, M, KERR, D, UCHIDA, H, BINNS, CW. Differences in the relationship between BMI and percentage body fat between Japanese and Australian-Caucasian young men. *Br J Nutr* 2006, n° 95, p. 1002-1007.
- KEALY, RD, LAWLER, DF, BALLAM, JM, MANTZ, SL, BIERY, DN, GREELEY, EH, LUST, G, SEGRE, M, SMITH, GK, STOWE, HD. Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. *Am Vet Med Assoc* 2002, n° 220, p. 1315-1320
- KHALED MA, KRUMDIECK CL, ONG JL. Determination of doubly labeled water by gas-phase Fourier transform infrared spectroscopy. *Metab* 1995, n° 44, p. 1-3.
- KIENZLE, E, ZENTEK, J, MEYER, H. Body composition of puppies and young dogs. *J Nutr* 1998, n° 128(12), p. 2680S-2683S
- KIM, JH, CHOI, SH, LIM, S, KIM, KW, LIM, JY, CHO, NH, PARK, KS, JANG, HC. Assessment of appendicular skeletal muscle mass by bioimpédance in older community-dwelling Korean adults. *Arch Gerontol Geriatr* 2014, n° 58(3), p. 303-307.
- KOPPLE, JD. Pathophysiology of protein-energy wasting in chronic renal failure. *J Nutr* 1999, n°129(1), p. 247S-251S.

- KOTLER DP, BURASTERO S, WANG J, PIERSON JR RN. Prediction of body cell mass, fat-free mass and total body water with bioelectrical impedance analysis: effects of race, sex, and disease. *Am J Clin Nutr* 1996, n° 64(suppl), p. 489S-497S.
- KUMAR, S, KHOSRAVI, M, MASSART, A, POTLURI, M, DAVENPORT, A. The effects of racial differences on body composition and total body water measured by multifrequency bioelectrical impedance analysis influence delivered Kt/V dialysis dosing. *Nephron Clin Pract* 2013, n° 124, p. 60-66.
- KUSHNER, RF. Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. *J Am Coll Nutr* 1992, n° 11(2), p. 199-209.
- KUSHNER RF, SCHOELLER DA. Estimation of total body water by bioelectrical impedance analysis. *Am J Clin Nutr* 1986, n° 44, p. 417-424.
- KUSHNER, RF, GUDIVAKA, R, SCHOELLER, DA. Clinical characteristics influencing bioelectrical impedance analysis measurements. *Am J Clin Nutr* 1996, n° 64(suppl), p. 423S-427S.
- KUSHNER, RF, SCHOELLER, DA, FJELD, CR, DANFORD, L. Is the impedance predicting total index (ht<sup>2</sup>/R) body water? *Am J Clin Nutr* 1992, n° 56, p. 835-839.
- KYLE, UG, GENTON, L, KARSEGARD, L, SLOSMAN, DO, PICHARD, C. Single prediction equation for bioelectrical impedance analysis in adults aged 20–94 years. *Nutr* 2001, n° 17(3), p. 248-53.
- KYLE, UG, BOSEAUS, I, DE LORENZO, A, DEURENBERG, P, ELIA, M, GOMEZ, JM, HEITMANN, BL, KENT-SMITH, L, MELCHIOR, JC, PIRLICH, M, SHARFETTER, H, SCHOLS, AMWJ, PICHARD, C. Bioelectrical impedance analysis - part I: review of principles and methods. *Clin Nutr* 2004a, n° 23, p. 1226–1243.
- KYLE UG, BOSEAUS I, DE LORENZO A, DEURENBERG P, ELIA M, GOMEZ JM, HEITMANN BL, KENT-SMITH L, MELCHIOR JC, PIRLICH M, SHARFETTER H, SCHOLS AMWJ, PICHARD C. Bioelectrical impedance analysis - part II: utilization in clinical practice. *Clin Nutr* 2004b, n° 23, p. 1430-1453.
- LARCIPRETE, G, VALENSISE, H, VASAPOLLO, R, ALTOMARE, E, SORGE, R, CASALINO, B, DE LORENZO, A, ARDUINI, D. Body composition during normal pregnancy: reference ranges. *Acta Diabetol* 2003, n° 40, p. S225-S232.

- LATMAN, NS, KEITH, N, NICHOLSON, A, DAVIS, M. Bioelectrical impedance analysis determination of water content and distribution in the horse. *Res Vet Sci* 2011, n° 90, p. 516–520.
- LAUTEN, SD, COX, NR, BRAWNER, WR, BAKER, HJ. Use of dual energy x-ray absorptiometry for noninvasive body composition measurements in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 2001, n° 62, p. 1295–1301.
- LEGRAND-DEFRETIN, V, MUNDAY, HS. Feeding dogs and cats for life. In *The WALTHAM Book of Companion Animal Nutrition* 1993, I. Burger, editor. Oxford: Pergamon Press, p. 57-68.
- LEMIEUX, FC, FILION, ME, BARBAT-ARTIGAS, S, KARELIS, AD, AUBERTIN-LEHEUDRE, M. Relationship between different protein intake recommendations with muscle mass and muscle strength. *Climacteric* 2014, n° 17(3), p. 294-300.
- LIANG, MT, NORRIS, SCOTT. Effects of skin blood flow and temperature on bioelectric impedance after exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1993, n° 25(11), p. 1231-1239.
- LUKASKI, HC, JOHNSON, PE. A simple, inexpensive method of determining total body water using a tracer dose of D<sub>2</sub>O infrared absorption of biological fluids. *Am J Clin Nutr* 1985, n° 41, p. 363-370.
- LUKASKI, HC, BOLONCHUK, WW, HALL, CB, SIDERS, WA. Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition. *J Applied Physiol* 1986, n° 60(4), p. 1327-1332.
- LUKASKI, HC, JOHNSON, PE, BOLONCHUCK, WW, LYKKEN, GI. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr* 1985, n° 41, p. 810-817.
- LUKASKI, HC, SIDERS, WA, NIELSON, EJ, HALL, CB. Total body water in pregnancy; assessment by using bioelectrical impedance. *Am J Clin Nutr* 1994, n°59, p. 578-585.
- LUKE A, BOVET P, FORRESTER TE, LAMBERT EV, PLANGE-RHULE J, DUGAS LR, DURAZO-ARVIZU RA, KROFF J, RICHIE WN, SCHOELLER DA. Prediction of fat-free mass using bioelectrical impedance analysis in young adults from five populations of African origin. *Eur J Clin Nutr* 2013, n° 67(9), p. 956-960.
- McKEEN, G, LINDINGER, MI. Prediction of hydration status using multi-frequency bioelectrical impedance analysis during exercise and recovery in horses. *Eq Comp Exerc Physiol* 2004, n° 1(3), p. 199-209.

- MAGGIORE, Q, NIGRELLI, S, CICCARELLI, C, GRIMALDI, C, ROSSI, GA, MICHELASSI, C. Nutritional and prognostic correlates of bioimpedance indexes in hemodialysis patients. *Kidney Intern* 1996, n° 50, p. 2103-2108.
- MALLY, K, DITTMAR, M. Comparison of three segmental multifrequency bioelectrical impedance techniques in healthy adults. *Ann Hum Biol* 2012, n° 39(6), p. 468-478.
- MÁRQUEZ, JC, SEOANE, F, VÄLIMÄKI, E, LINDECRANTZ, K. Comparison of Dry-Textile Electrodes for Electrical Bioimpedance Spectroscopy Measurements. *J Physics: Conference Series* 2010, n° 224(1), p. 012140. IOP Publishing.
- MARTINOLI, R, MOHAMED, EI, MAIOLO, C, CIANCI, R, DENOTH, F, SALVADORI, S, OACOPINO, L. Total body water estimation using bioelectrical impedance: a meta-analysis of the data available in the literature. *Acta Diabetol*, 2003, n° 40(1 Suppl), p. S203-S206.
- MASUDA T, KOMIYA S. A Prediction Equation for Total Body Water from Bioelectrical Impedance in Japanese Children. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 2004, n° 23(2), p. 35-39.
- MATTHIE, J, ZAROWITZ, BB, DE LORENZO, A, ANDREOLI, A, KATZARSKI, K, PAN, G, WITHERS, P. Analytic assessment of the various bioimpedance methods used to estimate body water. *J Appl Physiol* 1998, n° 84, p. 1801-1816.
- MAZARIEGOS, M, PITHAN, C, MEYER, A, MENDOZA, I, FÜRST, P, SOLOMONS, NW. Bioelectrical impedance spectroscopy (BIS) in young children with acute and semi-acute hydration disorders: Potentials and limitations. *Appl Radiat Isot* 1998, n° 49(5-6), p. 611-614.
- MCKEEN, G, LINDINGER, MI. Prediction of hydration status using multi-frequency bioelectrical impedance analysis during exercise and recovery in horses. *Eq Comp Exerc Physiol* 2004, n° 1(3), p. 199-209.
- MEYER, J, STADTFELD, G. Investigation on the body and organ structure of dogs. *In: Nutrition of the Dog and Cat*. Anderson, R. S., ed., Pergamon Press, Oxford, UK, 1980, p. 15-30.
- MENDEZ, J, KEYS, A. Density and composition of mammalian muscle. *Metabolism* 1960, n° 9(2), p. 184-188.

- MICHEL, KE, ANDERSON, W, CUPP, C, LAFLAMME, DP. Correlation of a feline muscle mass score with body composition determined by dual-energy X-ray absorptiometry. *Br J Nutr* 2011, n° 106, p. S57-S59.
- MOK, E, LETELLIER, G, CUISSET, JM, DENJEAN, A, GOTTRAND, F, HANKARD, R. Assessing change in body composition in children with Duchenne muscular dystrophy: anthropometry and bioelectrical impedance analysis versus dual-energy X-ray absorptiometry. *Clin Nutr* 2010, n° 29, p. 633-638.
- MOK, E, BÉGHIN, L, GACHON, P, DAUBROSSE, C, FONTAN, JE, CUISSET, JM, GOTTRAND, F, HANKARD, R. Estimation body composition in children with Duchenne muscular dystrophy : comparison of bioelectrical impedance analysis and skinfold-thickness measurement. *Am J Clin Nutr* 2006, n° 83, p. 65-69.
- MOON, JR. Body composition in athletes and sports nutrition: an examination of the bioimpédance analysis technique. *Eur J Clin Nutr* 2013, n° 67(S1), p. S54-S59.
- MORENO, MV, MORENO, G, HUBERT, F. Monitoring of bioimpedance data during exercise in cyclists. *Proceedings of 7th ISEA CONFERENCE* 2008 Biarritz, June 2-6, 2008.
- MUNDAY, HS, BOOLES, D, ANDERSON, P, POORE, DW, EARLE, KE. The repeatability of body composition measurement in dogs and cats using Dual X-ray absorptiometry. *J Nutr* 1994, n° 124, p. 2619S-2621S.
- MUPERE, E, MALONE, L, ZALWANGO, S, OKWERA, A, TISH, DJ, PARRAGA, IM, STEIN, CM, MUGERWA, R, BOOM, WH, MAYANJA, HK, WHALEN, CC. Wasting among Uganda men with pulmonary tuberculosis is associated with linear regain in lean tissue during and after treatment in contrast to women with wasting who regain fat tissue mass: prospective cohort study. *BMC Infectious Disease* 2014, n° 14, p. 14-24.
- NIH- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, et al. Bioelectrical impedance analysis in body composition measurement: National Institutes of Health Technology Assessment Conference statement, December 12-14, 1994. NIH Office of Medical Applications of Research 1994.
- NYBOER, J. Electrorheometric properties of tissues and fluids. *Ann NY Acad Sci* 1970, n° 170(2), p. 410-420.
- NYBOER, J. Workable volume and flow concepts of bio-segments by electrical impedance plethysmography. *TIT J Life Sci* 1972, n° 2, p. 1-13.



- O'BRIEN, C, BAKER-FULCO, CJ, YOUNG, AJ, SAWKA, MN. Bioimpedance assessment of hypohydration. *Med Sci Sports Exerc* 1999, n° 31(10), p. 1466-1471.
- ORGAN, LW, BRADHAM, GB, GORE, DT, LOZIER, SL. Segmental bioelectrical impedance analysis: theory and application of a new technique. *J Appl Physiol* 1994, n° 77(1), p. 98-112.
- OTT, M, FISCHER, H, POLAT, H, ELM, EB, FRENZ, M, CASPARY, WF, LEMBCKE, B. Bioelectrical impedance analysis as a predictor of survival in patients with Human Immunodeficiency Virus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995, n° 9, p. 20-25.
- PACE, N, KLINE, L, SCHACHMAN, HK, HARFENIST, M. Studies on body composition. III. The body water and chemically combined nitrogen content in relation to fat content. *J Biol Chem* 1945, n° 158, p. 685-691.
- PATEL, RV, MATTHIE, JR, WITHERS, PO, PETERSON, EL, ZAROWITZ, BJ. Estimation of total body and extracellular water using single- and multiple-frequency bioimpedance. *Ann Pharmacother* 1994, May, n° 28(5), p. 565-569.
- PICCOLI, A. Whole Body – Single Frequency Bioimpedance. *Contrib Nephrol* 2005, n° 149, p. 150-161.
- PINSON, EA. Water exchanges and barriers as studied by the use of hydrogen isotopes. *Physiol Rev* 1952, n° 32, p. 123-134.
- RAFFAN, E, HOLDEN, SH, CULLINGHAM, F, HACKETT, RM, RAWLIINGS, JM, GERMAN, AJ. Standardized positioning is essential for precise determination of body composition using Dual-Energy X-Ray Absorptiometry in dogs. *J Nutr* 2006, n° 136, p. 1976S-1978S.
- REBEYROL, J, MORENO, MV, RIBBE, E, VANNICATTE, A. Case study: using monitoring of body composition data obtained by bioimpedance, in training of an elite male runner. *Procedia Engin* 2010, n° 2, p. 3059-3064.
- ROBERTSON, ID. The association of exercise, diet and other factors owner perceived obesity in privately owned dogs from metropolitan Perth, WA. *Prev Vet Med* 2003, n° 58, p. 75-83.
- ROOS, AN, WESTENDORP, RG, FRÖLICH, M, MEINDERS, AE. Tetrapolar body impedance is influenced by body posture and plasma sodium concentration. *Eur J Clin Nutr* 1992, n° 46(1), p. 53-60.

- ROSE, GB. Effects of hormones on renal function. *In: Clinical physiology of acid-base and electrolyte disorders*, ed. GB Rose, New York: McGraw-Hill, 1994, p. 135-215. ISBN 978-0071346825.
- SCHLOERB, PR, FRIIS-HANSEN, RI, EDELMAN, IS, SOLOMONS, AK, MOORE, FD. The measurement of total body water in the human subject by deuterium oxide dilution. *J Clin Invest* 1950, n° 29, p. 1296-1310.
- SCHOELLER, DA. Hydrometry. *In Human body composition*, Volume 918, 2<sup>nd</sup> ed. Sous la dir de SB Heymsfield. Champaign (IL), 2005, p. 35-50. ISBN 0-7360-4655-0.
- SCHWAN, HP. Electrode polarization impedance and measurements in biological materials. *Ann NY Acad Sci* 1968, p. 148-191.
- SEGAL, KR, VAN LOAN, M, FITZGERALD, PI, HODGDON, JA, VAN ITALLIE, TB. Lean body mass by bioelectrical impedance analysis. A four-site cross-validation study. *Am J Clin Nutr* 1988, n° 47, p. 7-14.
- SEGAL, KR, BURASTERO, S, CHUN, A, CORONEL, P, PIERSON, Jr RN, WANG, J. Estimation of extracellular and total body water by multiple-frequency bioelectrical-impedance measurement. *Am J Clin Nutr* 1991, n° 54, p. 26-29.
- SHAIKH, S, SCHULZE, KJ, KURPAD, A, ALI, H, SHAMIM, AA, MEHRA, S, WU, LSF, RASHID, M, LABRIQUE, AB, CHRISTIAN, P, WEST, JR KP. Development of bioelectrical impedance analysis-based equations for estimation of body composition in postpartum rural Bangladeshi women. *Br J Nutr* 2012, n° 4, p. 1-9.
- SHELTINGA, MR, HELTON WS, ROUNDS J, JACOBS DO, WILMORE DW. Impedance electrodes positioned on proximal portions of limbs quantify fluid compartments in dogs. *J Appl Physiol* 1991, n° 5, p. 2039-2044.
- SHETTY, PS. Body composition in malnutrition. *In: Body composition techniques in health and disease*, eds PSW Davies and TJ Cole, 1995, p. 71-84, UK: Cambridge University Press. ISBN 0-521-46179-0.
- SHIRREFFS, SM, MAUGHAN, RJ. The effect of posture change on blood volume, serum potassium and whole body electrical impedance. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1994, n° 69(5), p. 461-463.
- SILLERAS, M, DEL RIO, R, CAMINA MARTIN, A, SOTO CELIX, ALONSO DE LA TORRE, S, MIJAN DE LA TORRE, A. Efecto de la realimentación en la composición

- corporal de mujeres con anorexia nerviosa restrictiva; antropometría frente a impedancia bioeléctrica. *Nutrición Hospitalaria* 2013, n° 28(5), p. 1717-1724.
- SMITH JR, DL, JOHNSON, MS, NAGY, TR. Precision and accuracy of bioimpedance spectroscopy for determination of in vivo body composition in rats. *Int J Body Compos Res* 2009, n° 7(1), p. 21–26.
- SPEAKMAN, JR, BOOLES, D, BUTTERWICK, R. Validation of dual energy x-ray absorptiometry (DXA) by comparison with chemical analysis of dogs and cats. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001, n°25, p. 439-447.
- SPEAKMAN, JR, VAN ACKER, A, HARPER, EJ. Age-related changes in the metabolism and body composition of three dog breeds and their relationship to life expectancy. *Aging Cell* 2003, n° 2, p. 265 –275.
- STANTON, CA, HAMAR, DW, JOHNSON, DE, FETTMAN, MJ. Bioelectrical impedance and zoometry for body composition analysis in domestic cats. *Am J Vet Res* 1992, n° 53(2), p.251-257.
- STONE, R, BERGHOFF, N, STEINER, JM, ZORAN, D. Use of a bioelectric impedance device in obese and lean healthy dogs to estimate body fat percentage. *Vet Ther* 2009, n°10, p. 59–70.
- TAYLOR, BN, KUYATT, CE. Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results. National Institute for Standard and Technology, Technical Note 1297 1994 Edition. pp.25.  
<http://physics.nist.gov/Pubs/guidelines/TN1297/tn1297s.pdf> [29 august 2014]
- THOMSON, BC, THOMAS, BJ, WARD, LC, SILLENCE, MN. Evaluation of multifrequency bioelectrical impedance data for predicting lean tissue mass in beef cattle. *Aus J Expe Agricult* 1997, n° 37(7), p. 743 – 749.
- TOLL, PW, GROSS, KL, BERRYHILL, SA, JEWEL, DE. Usefulness of Dual X-ray absorptiometry for body composition measurement in adult dogs. *J Nutr* 1994, n°124, p.2601S-2603S,
- TSAI, JZ, WILL, JA, HUBBARD-VAN STELLE, S, CAO, H, TUNGJITKUSOLMUN, S, YOUNG BIN, C, HAEMMERICH, D, VORPERIAN, VR, WEBSTER, JG. Error analysis of tissue resistivity measurement. *Biomed Eng* 2002, n° 49(5), p. 484-494.

- VALENSISE, H, ANDREOLI, A, LELLO, S, MAGNANI, F, ROMANINI, C, DE LORENZO, A. Multifrequency bioelectrical impedance analysis in women with abnormal and hypertensive pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000, n°72, p.780–783.
- VAN LOAN, M, MAYCIN, P. Bioelectrical impedance: is it reliable estimator of lean body mass and total body water? *Hum Biol* 1987, n° 59, p. 299-306.
- VAN MARKEN LICHTENBELT, WD, WESTERTERP, KR, WOUTERS, L, LÜJENDIJK, SCM. Validation of bioelectrical-impedance measurements as a method to estimate body-water compartments. *Am J Clin Nutr* 1994, n° 60, p. 159-166.
- WANG, ZM, DEURENBERG, P, GUO, SS, PIETROBELLI, A, WANG, J, PIERSON, RN, HEYMSFIELD, SB. Six-compartment body composition model: Inter-method comparisons of total body fat measurement. *Int J Obes* 1998, n° 22, p. 329-337.
- WANG, ZM, DEURENBERG, P, WANG, W, PIETROBELLI, A, BAUMGARTNER, RN, HEYMSFIELD, SB. Hydration of fat-free body mass: review and critique of a classic body-composition constant. *Am J Clin Nutr* 1999, n° 69, p. 833-841.
- WARD, LC, ELIA, M, CORNISH, BH. Potential errors in the application of mixture theory to multifrequency bioelectrical impedance analysis. *Physiol Meas* 1998, n° 19, p. 53–60.
- WARD, LC, MASON, S, BATTERSBY, KJ. Bioimpedance spectroscopy for the measurement of body composition of laboratory rats in vivo. *Int J Body Compos Res*, 2009, n° 7(1), p. 27-35.
- WU, TJ. Relationships between age, sex, anthropometry and bioelectrical impedance. *J Formos Med Assoc* 1992, n° 90, p. 1143-1147.
- YANOVSKY, JA, YANOVSKI, SZ, FILMER, KM, HUBBARD, VS, AVILA, N, LEWIS, B, REYNOLDS, JC, FLOOD, M. Differences in body composition of black and white girls. *Am J Clin Nutr* 1996, n° 64, p. 833-839.
- ZWEENS J, FRANKENA H, REICHER A, ZIJLSTRA WG. Infrared-spectrometric determination of D<sub>2</sub>O in biological fluids. Reappraisal of the method and application to the measurement of total body water and daily water turnover in the dog. *Pflugers Archiv* 1980, n° 385, p. 71-77.

## Table des illustrations

Figure 1 : Mesure d'impédance de l'ensemble du corps à l'aide de 4 électrodes. Le courant alternatif sinusoïdal est transmis par les électrodes émettrices (en gris) au poignet et à la cheville à droite. Le courant $u(t)$ sera mesuré au moyen d'électrodes réceptrices (en noir) placées au-dessus des électrodes émettrices. Ainsi, le courant $i(t)$ traverse l'ensemble du corps (lignes pointillées). Dessin original : Lauréline Colliard .....	11
Figure 2 : Schématisation du circuit électrique constitué par la matière biologique. $R_e$ : résistance extracellulaire, $R_i$ : résistance intracellulaire, $C$ : capacitance de la membrane plasmique cellulaire.....	12
Figure 3 : Schéma représentant les modalités de passage d'un courant électrique (flèche en pointillé) soit a) uniquement dans l'espace extracellulaire (basses fréquences, $< 50$ kHz), soit b) au travers de l'ensemble des structures (hautes fréquences, $\geq 50$ kHz). Dessin original : Lauréline Colliard .....	13
Figure 4 : Extrêmes de formats corporels chez le chien. Le chihuahua peut ne peser que 500g alors que le Mastiff pèse une centaine de kilogrammes (Source internet : <a href="http://www.dogguide.net">http://www.dogguide.net</a> ).....	28
Figure 5 : Relation linéaire ( $R^2 = 0,4$ ) entre l'âge (axe des abscisses) et le rapport du pourcentage de masse maigre sur le pourcentage de masse grasse (axe des ordonnées) chez 40 chiens de race Labrador Retrievers (9 mâles dont 5 entiers et 31 femelles dont 14 entières) âgés de 2 à 13 ans (HARPER 1998). .....	31
Figure 6 : Pourcentage de masse grasse (ordonnées) en fonction de l'âge du Labrador Retriever (abscisse). Le groupe test (ligne pointillée) a subi une restriction énergétique de 25% tout au long de leur vie par rapport au groupe contrôle (ligne continue) (KEALY et al. 2002).....	32
Figure 7 : Photographie d'une électrode conductrice et émettrice, composée d'une pince-crocodile dont les dents ont été écrasées pour le confort de l'animal. ....	36

Figure 8 : Photographie présentant le système de contention permettant de maintenir le chien en position debout confortable sans le maintien manuel par un opérateur. ....	37
Figure 9 : Photographies présentant la position des électrodes reliées à l'impédancemètre (a) sur le membre antérieur droit (b) sur le membre postérieur droit et (c) vue d'ensemble du dispositif. Le chien se tient debout, tranquille et sans l'aide d'un opérateur, pendant les 2-3 minutes que dure la procédure. ....	38
Figure 10 : Photographies présentant les modalités de mesure du périmètre thoracique (a), au niveau du processus xiphoïde, en phase d'expiration et du périmètre abdominal (b), au niveau du nombril, en phase d'expiration.....	39
Figure 11 : La longueur du corps du chien est mesurée entre la protubérance occipitale externe et la base de la queue à l'aide d'un mètre de couturier. ....	40
Figure 12 : La toise médicale permet une mesure précise au millimètre près de la hauteur au garrot de chien.....	40







Résumé :

**Objectifs** : valider des équations prédictives de la teneur en eau totale (TBW) chez le chien vigile de race beagle par bioimpédancemétrie monofréquence à 50 kHz, en comparaison avec la méthode de référence de dilution au deutérium. Ces équations seront ensuite appliquées à différentes races de chiens afin de vérifier leur validité chez tous les formats de chiens.

**Animaux** : 26 chiens de laboratoire de race beagle et 13 chiens de propriétaires de diverses races.

**Méthodes** : TBW est déterminée par la méthode de référence de dilution à l'eau deutérée et indirectement par l'utilisation d'équations prédictives établies à partir de mesures morphologiques et des mesures électriques (résistance et réactance) obtenues au moyen d'un bioimpédancemètre.

**Résultats** : Les données obtenues chez 16 des 26 beagle a permis d'établir, par régression linéaire, deux équations prédictives de la teneur en eau totale suivantes :  $TBW_1 = -0.019(BL^2/R) + -0.199(RC + AC) + 0.996W + 0.081H + 12.31$ ; et  $TBW_2 = 0.048(BL^2/R) + -0.144(RC + AC) + 0.777W + 0.066H + 0.031X + 7.47$ , où AC est le périmètre abdominal, H la hauteur au garrot, BL la longueur du corps, R la résistance, RC le périmètre thoracique, W le poids; and X la réactance. Chez les 10 beagles restants, TBW calculée par les équations  $TBW_1$  et  $TBW_2$  et celle obtenue par la méthode de dilution sont fortement corrélées ( $R^2_1 = 0.843$ ;  $R^2_2 = 0.816$ ). La 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> équations sous-estiment de façon non significative la TBW de respectivement 2.4% and 1.6%. Cependant, l'application de ces formules à des chiens de diverses races ne permet pas l'estimation correcte de la TBW par rapport à la méthode de référence.

**Conclusion** : Cette étude montre qu'il est possible et facile d'utiliser la bioimpédance chez le chien vigile. Deux équations prédictives de la TBW ont été développées et validées chez le beagle mais ne sont pas applicables en l'état à d'autres races de chien. La diversité morphologique des races canines obligent à adapter ces équations en fonction de paramètres de conformation et de format.

Mots clés : [Bioimpédance – chiens – composition corporelle – eau totale – dilution isotopique]

[Validation of predictive equations of the body composition in dogs]

Abstract :

**Objectives**—To develop equations for prediction of total body water (TBW) content in unsedated dogs by combining impedance and morphological variables, and to compare the results of those equations with TBW content determined by deuterium dilution ( $TBW_d$ ). Then to investigate whether these equations were predictive of TBW in various canine breeds.

**Animals**—26 healthy laboratory adult Beagles and 13 healthy adult pet dogs of various breeds.

**Procedures**—TBW content was determined directly by deuterium dilution and indirectly with equations developed from measurements obtained by use of a portable bioelectric impedance device and morphological variables.

**Results**—Impedance and morphological data from 16 of the 26 Beagle dogs were used to determine coefficients for the following 2 equations:  $TBW_1 = -0.019(BL^2/R) + -0.199(RC + AC) + 0.996W + 0.081H + 12.31$ ; and  $TBW_2 = 0.048(BL^2/R) + -0.144(RC + AC) + 0.777W + 0.066H + 0.031X + 7.47$ , where AC is abdominal circumference, H is height, BL is body length, R is resistance, RC is rib cage circumference, W is body weight; and X is reactance. Results for  $TBW_1$  ( $R^2_1 = 0.843$ ) and  $TBW_2$  ( $R^2_2 = 0.816$ ) were highly correlated with the  $TBW_d$ . When the equations were validated with data from the remaining 10 dogs, the respective mean differences between  $TBW_d$  and  $TBW_1$  and  $TBW_2$  were 0.17 and 0.11 L, which equated to a nonsignificant underestimation of TBW content by 2.4% and 1.6%, respectively. Applying the two equations to dogs of various breeds showed they are inaccurate to estimate TBW content.

**Conclusions and Clinical Relevance**—Results indicated that impedance and morphological data can be used to accurately estimate TBW content in adult Beagles. This method of estimating TBW content is less expensive and easier to perform than is measurement of  $TBW_d$ , making it appealing for daily use in veterinary practice. However, the proposed equations need to be modified including morphological parameters such as body size and shape in a first approach. As in humans, morphological-specific equations have to be developed and validated.

Keywords : [Bioimpedance – dogs – body composition – total body water – isotopic dilution]